



Unité de Service Enseignement et
Formation en Elevage
Campus de Baillarguet - TA A-71/B
34 398 MONTPELLIER Cedex 5



Université Montpellier II
Faculté des Sciences
Place Eugène Bataillon
34 095 MONTPELLIER Cedex 5



Ecole Nationale Vétérinaire de
Toulouse (ENVT)
23 chemin des Capelles
31076 TOULOUSE

MASTER 2^{ème} ANNEE

BGAE-MENTION SCIENCES POUR L'ENVIRONNEMENT

SPECIALITE BIODIVERSITE DES INTERACTIONS MICROBIENNES ET
PARASITAIRES (BIMP)

PARCOURS : SANTE ANIMALE ET EPIDEMIOSURVEILLANCE DANS LES PAYS DU
SUD (SAEPS)

RAPPORT DE STAGE

Etude sérologique de la trypanosomose (*Trypanosoma evansi*) et de la trichinellose (*Trichinella spiralis*) chez le buffle et le porc en Thaïlande et au Vietnam

Présenté par

Emilye LEBOUCHER

Réalisé sous la direction de : Dr. Marc Desquesnes

Organisme et pays: CIRAD-Kasetsart University Faculty Veterinary Medicine, Bangkok, Thaïlande

Période du stage : 15 mars 2010 – 15 Août 2010

Date de soutenance : 16-17 Septembre 2010

Année universitaire 2009-2010

MASTER 2^{ème} ANNEE

BGAE-MENTION SCIENCES POUR L'ENVIRONNEMENT

SPECIALITE BIODIVERSITE DES INTERACTIONS MICROBIENNES ET
PARASITAIRES (BIMP)

PARCOURS : SANTE ANIMALE ET EPIDEMIOSURVEILLANCE DANS LES PAYS DU
SUD (SAEPS)

RAPPORT DE STAGE

Etude sérologique de la trypanosomose (*Trypanosoma evansi*) et de la trichinellose (*Trichinella spiralis*) chez le buffle et le porc en Thaïlande et au Vietnam

Présenté par

Emilye LEBOUCHER

Réalisé sous la direction de : Dr. Marc Desquesnes

Organisme et pays : CIRAD & Kasetsart University Faculty Veterinary Medicine, Bangkok, Thaïlande

Période du stage : 15 mars 2010 – 15 Août 2010

Date de soutenance : 16-17 Septembre 2010

Année universitaire 2009-2010

Remerciements

Un grand merci en premier lieu à la fondation Mouvement pour les Villages d'Enfants (MVE) qui m'a apporté un soutien tant financier que moral et ce depuis ma licence à travers mes parrains Mr et Mme Paumier avec qui j'ai partagé mon expérience.

Je remercie également la Région Haute-Normandie pour la bourse Région Sans Frontière qui m'a permis de faire ce stage à l'autre bout du monde.

I would like to express my gratitude to Dr. Sathaporn Jittapalapong for welcoming me at Kasetsart University, Bangkok, Thailand, and to permit me to do my experimental infection on piglets.

Je suis reconnaissante envers Dr. Marc Desquesnes, Docteur Vétérinaire et Chercheur en Parasitologie (CIRAD) pour m'avoir pris comme stagiaire et m'avoir encadré tout au long de ce stage, d'avoir essayé de mettre en place des missions sur le terrain, pour sa disponibilité, pour ses encouragements, ses bons conseils en espérant que vous ne soyez pas déjà à cours de films et toujours aussi à l'aise avec l'informatique !

A ma petite maman pour son aide, son soutien, et sa confiance (voir un peu trop lol) même quand je suis à l'autre bout du monde et une situation politique peu stable ^^

A Sandra, ma sœur préférée lol pour son esprit critique, son objectivité envers et contre tout.

A Mehdi pour ses 6 ans déjà passé ensemble et pour avoir toujours été derrière moi en m'encourageant et en me poussant vers le haut. Merci d'être présent à mes côtés même en dépit des aléas de la vie !

Thank you so much to Ketsarin. Big up for you, my good friend, my mummy, my teacher, my everything (except pet ^^). Thanks for all yours advises and your help, to show me the amazing thai food, for your gifts (too much like a mummy), for the fantastic travel in Sakon Nakhon and the phet phet som tum ^^, "Im mah!" and wish you good luck for your PhD in Japan ^^ yatta! And you know « *Life is difficult !!!!* ». Hope to see you soon in France, Japan or Thailand...

Big up pour ma petite (enfin grande) Elsa, avec qui j'ai découvert le pays du sourire, les gamelles en 125, l'humidité du Songkhran, les joies du *tuk-tuk* (c'est vite dit lol), les coups de soleils, les majestueux temples, l'épisode des sangsues ainsi que nos amis les cockroach, les tournées des bars, la super soirée à Kanchanaburi sur les discorachts (mémorables !!!) et d'avoir été mon petit parasite durant les moments de tensions à Bangkok. J'attends nos retrouvailles à Paris pour une bonne petite bouffe autour d'une bouteille de vin, de fromage et du pain (car le fromage en conserve ce n'est pas humain !!!).

Un immense merci à ma petite Aor et son chevalier blanc Arm. Pour toute l'aide que tu m'as apporté à travers tout les petits tracas de la vie lol. Pour tous ces bons moments partagés, pour cette profusion de durian en chips, fruit, pâtisserie, caramel, pour ces délicieux cocktails et pour cette sortie sur les marchés flottants. Merci à tes parents pour leur immense gentillesse. Je suis heureuse d'avoir fait ta connaissance et espère avoir le plaisir de te voir en France pour visiter ensemble la capitale. Et je te félicite encore pour cette maîtrise de la langue de Molière.

Thank you so much to everybody from the Parasitology Department of KU Veterinary for your kindness, for your welcoming and for your help during my internship.

Un petit mot pour tout les gens de passages qui sont venu sur Bangkok pendant mon stage et ce pour ces moments plus ou moins courts mais intenses passés ensemble, merci à Ghislain, Daniel, Lucie, Jérémie, Dr. Alain Boulangé, Pae,

Pour finir merci à tout les gens de Montpel avec qui j'ai passé de super moment durant ces 3 années, même loin vous ne pourrez pas vous débarrasser de moi^^ : Alice, Axelle, Alex, Clara, Elsa, Gaëlle, Greg, Joy, Manu, Matthieu, Sylvain, Thomas...et à tout mes amis de ma Normandie natale.

Résumé

Afin de mieux comprendre l'épidémiologie de *Trypanosoma evansi* et *Trichinella spiralis* en Thaïlande et au Vietnam, une étude sérologique sur les buffles et les porcs a été menée.

Les buffles séropositifs à *T. evansi* provenaient des 7 provinces échantillonnées pour une prévalence globale de 10,98% (87/792). Près de 28,2% de la population était exposée, l'origine étant variable. Les porcs séropositifs ont été trouvés sur l'ensemble des districts et sub-districts échantillonnés à Chiang Raï (Thaïlande) pour une prévalence globale de 8,2% (12/147). Près de 38,8% de la population était exposée à l'infection. Au Vietnam, 6,1% des porcs (18/296) étaient séropositifs et provenaient de 6 des 11 provinces pour une prévalence de 4,3 à 10,7%. La composante géographique et l'âge, contrairement au sexe, influèrent sur le risque d'infection du buffle tandis que seule la composante géographique influe chez le porc. En condition expérimentale, malgré la sensibilité du porc face à *T. evansi*, la maladie resta bénigne avec seulement des accès de fièvre et faiblesse. Cette infection permit d'affirmer que, l'ELISA et la PCR, contrairement au CATT, étaient appropriés pour confirmer le statut de l'infection.

L'infection à *T. spiralis* a été détectée sur tous les points de collecte à Chiang Raï qui affichait une prévalence de 15,6% (23/147). Au Vietnam, ¼ des provinces étaient concernées pour une prévalence globale de 3,0% (9/296). Cette étude montra d'une part le rôle non négligeable de l'homme dans la pérennisation du cycle et d'autre part les facteurs de risque pour le porc.

Mots clés : *Trypanosoma evansi*, *Trichinella spiralis*, buffle, porc, infection expérimentale, Thaïlande, Vietnam.

Abstract

To better understand the epidemiology of *Trypanosoma evansi* and *Trichinella spiralis* Thailand and Vietnam, a serological survey on buffalo and pig was conducted.

Seropositive buffaloes were found in the seven provinces sampled for an overall prevalence of 10.98% (87/792). Nearly 28.2% of the sampled populations were exposed to the infection and in various situations. For pigs, serological traces of *T. evansi* infection were found in all districts and sub-districts sampled in Chiang Rai (Thailand), for an overall prevalence of 8.2% (12/147). Nearly 38.8% of the sampled populations were exposed to the infection but in different situations. In Vietnam, 6.1% of pigs (18/296) were seropositive and belonged to 6 of 11 provinces whose prevalence ranges from 4.3 to 10.7%. The geographic component and age, in contrast to gender, are risk factors for buffaloes. For pigs, none of the parameters, apart geographically, proved risk factor here. In experimental condition, despite the sensitivity of pigs against *T. evansi*, the disease remained mild with only fever and weakness. This infection showed that ELISA and PCR, unlike the CATT are appropriate to confirm the status of infection.

T. spiralis was detected in all districts and sub-districts sampled in Chiang Rai for an overall prevalence of 15.6% (23/147). In Vietnam, ¼ provinces were affected for an overall prevalence of 3.0% (9/296). This study showed the significant part of human in the perpetuation of the cycle and in the other hand risk factors for pork.

Keywords: *Trypanosoma evansi*, *Trichinella spiralis*, buffalo, pig, experimental infection, Thailand, Vietnam.

นามธรรม

การสำรวจทางซีรัมวิทยาในกระบือและสุกรนี้
กระทำขึ้นเพื่อเพิ่มความเข้าใจเกี่ยวกับระบาดวิทยาของเชื้อ *Trypanosoma evansi* และ
Trichinella spiralis ในประเทศไทยและเวียดนาม
จากผลบวกทางซีรัมวิทยาของกระบือพบว่าค่าความชุกโดยรวมของการติดเชื้อ *T. evansi*
เป็นร้อยละ 10.98 (87/792) แสดงให้เห็นว่า เกือบร้อยละ 28.2
ของจำนวนประชากรกระบือที่ศึกษา มีการโอกาสในการติดเชื้อ ในหลายสภาวะการณ์ สำหรับสุกร
พบร่องรอยการติดเชื้อทางซีรัมวิทยา ในทุกอำเภอและตำบล ของจังหวัดเชียงราย
และพบความชุกโดยรวมของการติดเชื้อเป็นร้อยละ 8.2% (12/147) ของประชากรที่ทำการศึกษา
เกือบร้อยละ 38.8 ของจำนวนสุกรที่ศึกษา มีโอกาสในการติดเชื้อ ในสภาวะที่แตกต่างกันไป
ส่วนในประเทศเวียดนามพบว่า ร้อยละ 6.1 ของสุกร มีผลบวกที่ซีรัมวิทยา ซึ่ง 6 ใน 11 จังหวัดนั้น
มีความชุกอยู่ในช่วงร้อยละ 4.3 ถึง 10.7 สภาพทางภูมิศาสตร์และอายุซึ่งแตกต่างจากเพศ
คือปัจจัยเสี่ยงในการติดเชื้อ *T. evansi* ของกระบือ สำหรับสุกร
ไม่มีค่าใดเลยยกเว้นสภาพภูมิศาสตร์ที่บ่งชี้ถึงปัจจัยเสี่ยงต่อการติดเชื้อ
สำหรับการทดลองการติดเชื้อในสุกรนั้น แม้ว่าสุกรจะแสดงการติดเชื้อน้อยมาก
เพียงแค่มิใช่และอ่อนแรงเท่านั้น แต่การตรวจยืนยันการติดเชื้อด้วยวิธี ELISA และ PCR นั้น
ก็เป็นวิธีที่เหมาะสม
T. spiralis สามารถตรวจพบได้ในทุกอำเภอ และตำบลของจังหวัดเชียงราย
โดยพบความชุกโดยรวมของการติดเชื้อ *T. spiralis* เป็นร้อยละ 15.6% (23/147)
ในประเทศเวียดนามพบว่าหนึ่งในสี่ของจังหวัด ได้รับผลกระทบ
ซึ่งพบความชุกโดยรวมของการติดเชื้อ *T. spiralis* เป็นร้อยละ 3.0% (9/296)
จากการศึกษานี้ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของนักวิจัยท่านอื่น แสดงให้เห็นว่าเนื้อสุกร
เป็นส่วนสำคัญที่ทำให้คนมีโอกาสติดเชื้อ และเข้าไปอยู่ในวัฏจักรชีวิตของปรสิตนี้อย่างถาวร

คำค้น: *Trypanosoma evansi*, *Trichinella spiralis*, ทรูปาโนโซมา อีแวนซี, ทริคไคโนเลลา
สไปรอลลิส, กระบือ, สุกร, การทดลองแบบติดเชื้อ, ไทย, เวียดนาม

Sommaire

| | |
|--------------------------------------|------|
| Remerciements | i |
| Résumé..... | iii |
| Abstract | iii |
| บทคัดย่อ | iv |
| Sommaire | v |
| Abréviations | viii |
| Listes des figures et tableaux | ix |

INTRODUCTION..... 1

PARTIE 1 : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE 2

| | |
|--|----|
| CHAPITRE 1 : TRYPANOSOMOSE A <i>TRYPANOSOMA EVANSI</i> | 2 |
| 1. <i>Le parasite</i> | 2 |
| 1.1. Morphologie..... | 2 |
| 1.2. Position phylogénique de <i>T. evansi</i> au sein des trypanozoons..... | 2 |
| 1.3. Distribution..... | 3 |
| 2. <i>Hôtes et effets sur l'hôte</i> | 3 |
| 2.1. Principaux hôtes et pathogénicité | 3 |
| 2.2. Immunosuppression induite par <i>T. evansi</i> | 4 |
| 3. <i>Epidémiologie</i> | 5 |
| 3.1. Persistance de l'agent..... | 5 |
| 3.2. Mode de transmission | 5 |
| 3.3. Facteurs de risque | 6 |
| 4. <i>Le Surra</i> | 7 |
| 4.1. Outils de diagnostic | 7 |
| 4.2. Moyens de contrôle, prévention et traitements | 8 |
| 4.3. L'importance du Surra | 9 |
| 4.4. Situation en Thaïlande et au Vietnam | 10 |
| CHAPITRE 2 : TRICHINELLOSE A <i>TRICHINELLA SPIRALIS</i> | 11 |
| 1. <i>Le parasite</i> | 11 |
| 1.1. Le genre <i>Trichinella</i> | 11 |
| 1.2. Biologie : généralités | 11 |
| 1.2.1 Morphologie générale..... | 11 |
| 1.2.2 Cycle de vie de <i>Trichinella spp.</i> | 12 |
| 2. <i>Epidémiologie de Trichinella spiralis chez l'homme</i> | 12 |
| 2.1. Répartition géographique et situation épidémiologique mondiale | 12 |
| 2.2. Persistance de l'agent et transmission | 13 |
| 2.3. Principaux hôtes..... | 13 |
| 2.3.1 Cycle sylvatique et interaction avec l'Homme | 14 |
| 2.3.2 Cycle domestique et facteurs de risque | 14 |
| 2.3.3 Importance des rongeurs dans l'entretien du cycle | 14 |
| 3. <i>La trichinellose chez l'homme</i> | 14 |
| 3.1 Pathologie et évolution de la maladie | 14 |
| 3.2 Diagnostic, traitements et prévention..... | 15 |
| 3.3 Etat des lieux de la trichinellose en Asie du Sud-Est..... | 16 |

| | |
|--|-----------|
| PARTIE II : ETUDE PRELIMINAIRE DE LA TRYPANOSOMOSE CHEZ LES BUFFLES EN THAÏLANDE..... | 17 |
| 1. <i>Matériel et méthodes</i> | 18 |
| 1.1. Matériel..... | 18 |
| 1.1.1 Antigène pour l'ELISA..... | 18 |
| 1.1.2 Populations étudiées..... | 18 |
| 1.2. Méthodes..... | 19 |
| 1.2.1 Diagnostic direct..... | 19 |
| 1.2.2 Diagnostic sérologique..... | 19 |
| 1.2.2.1 CATT/ <i>T. evansi</i> ®..... | 19 |
| 1.2.2.2 ELISA indirect..... | 19 |
| 1.2.3 Diagnostic moléculaire..... | 21 |
| 2. <i>Résultats</i> | 21 |
| 2.1. RESULTATS GENERAUX..... | 21 |
| 2.2. RESULTATS DES DIVERS DIAGNOSTICS..... | 22 |
| 2.3. CLASSES D'AGE..... | 23 |
| 2.4. SEXE..... | 23 |
| 2.5. DISTRIBUTION GEOGRAPHIQUE..... | 23 |
| 3. <i>Discussion</i> | 24 |
| 4. <i>Conclusion</i> | 27 |
| PARTIE III : ETUDE SEROLOGIQUE DE LA TRYPANOSOMOSE A <i>T. EVANSI</i> ET DE LA TRICHINELLOSE A <i>T. SPIRALIS</i> CHEZ LE PORC | 28 |
| CHAPITRE 1 : INFECTION EXPERIMENTALE PAR <i>TRYPANOSOMA EVANSI</i> CHEZ LE PORCELET..... | 29 |
| 1. <i>Matériel et méthodes</i> | 29 |
| 2. <i>Résultats</i> | 30 |
| 2.1. SIGNES CLINIQUES..... | 30 |
| 2.2. PARASITOLOGIE..... | 31 |
| 2.3. SEROLOGIE..... | 31 |
| 2.3.1 CATT..... | 31 |
| 2.3.2 ELISA..... | 31 |
| 2.4. PCR..... | 31 |
| 3. <i>Discussions</i> | 32 |
| 4. <i>Conclusion</i> | 33 |
| CHAPITRE 2 : ETUDES SEROLOGIQUES DE LA TRYPANOSOMOSE ET TRICHINELLOSE CHEZ LES PORCS DANS LA PROVINCE DE CHIANG RAÏ, THAÏLANDE ET DANS LE NORD VIETNAM. | 34 |
| 1. <i>Matériel et méthodes</i> | 34 |
| 1.1. Antigène pour l'ELISA..... | 34 |
| 1.2. Populations étudiées..... | 34 |
| 1.3. Prélèvements et sérologie..... | 34 |
| 2. <i>Résultats</i> | 35 |
| 2.1. <i>TRYPANOSOMA EVANSI</i> | 35 |
| 2.1.1. Résultats généraux..... | 35 |
| 2.1.2. Résultats sérologiques..... | 35 |
| 2.1.3. Sexe..... | 36 |
| 2.1.4. Race..... | 36 |
| 2.1.5. Distribution géographique..... | 36 |
| 2.2. <i>TRICHINELLA SPIRALIS</i> | 37 |
| 2.2.1. Thaïlande..... | 38 |
| 2.2.2. Vietnam..... | 38 |

| | | |
|--|--------------------------|-------|
| 3. | <i>Discussions</i> | 38 |
| 3.1 | <i>T. evansi</i> | 38 |
| 3.2 | <i>T. spiralis</i> | 40 |
| 4. | <i>Conclusion</i> | 41 |
| | | |
| Annexe 1 : Etude préliminaire de <i>Trypanosoma evansi</i> chez les éléphants en Thaïlande | | - 1 - |
| Annexe 2 : Protocole ELISA | | - 2 - |
| Annexe 3 : Protocole d'extraction d'ADN au phénol-chloroforme (Sambrook & Russel, 2001) | | - 3 - |
| Annexe 4 : PCR pour l'amplification de la région TBR (Masiga et al., 1992) | | - 4 - |
| Annexe 5 : Protocole électrophorèse sur gel d'Agarose (2%) | | - 5 - |
| Annexe 6 : Illustrations de l'élevage de buffle et de porc en Thaïlande | | - 6 - |

Abréviations

Ac : anticorps

Ak : akinétoplaste

C+ ; C- : Contrôle positif, contrôle négatif

CATT : Card Agglutination Test for Trypanosomiasis ; Test d'agglutination sur carte

Dk : dyskinétoplaste

DLD : Department of Livestock Development (Thaïlande)

DO : Densité Optique

ELISA : Enzyme-Linked Immunosorbent Assay ; Test immuno-enzymatique

FH : fièvre hémorragique

IC : Intervalle de confiance

L1 : Premier stade larvaire

mPfi : moyenne des prévalences des fermes infectées

NCVD : National Centre for Veterinary Diagnostics

NE : région Nord-Est

P : prévalence province

PBS : Phosphate Buffer Saline ; Tampon phosphate salin

PBS-T : PBS-Tween20, solution de lavage

PCR : Polymerase Chain Reaction ; Réaction en chaîne par polymérase

PCV : Packed Cell Volume ou Hématocrite

Pf : prévalence des fermes infectées

PI : post-infection

PPC : peste porcine classique

PPR : Pourcentage de Positivité Relative

Sem : semaine

Se : sensibilité

Sp : spécificité

SP : Seuil de positivité

TMB : 3,30,5,50-tétraméthylbenzidine, substrat chromogène

Tryps : trypanosomes

VPN : valeur prédictive négative

VPP : valeur prédictive positive

Listes des figures et tableaux

Figures

| | |
|--|-------|
| Figure 1 : Morphologie de <i>T. evansi</i> . | 2 |
| Figure 2 : Relations phylogénétiques proposées pour <i>T. brucei</i> , <i>T. equiperdum</i> et <i>T. evansi</i> | 3 |
| Figure 3 : Transmission de <i>Trypanosoma evansi</i> | 5 |
| Figure 4 : Sensibilité des principaux outils de diagnostic au cours d'une infection à <i>Trypanosoma spp.</i> | 8 |
| Figure 5 : Cycle de vie de <i>Trichinella spiralis</i> | 12 |
| Figure 6 : <i>T. spiralis</i> , large spectre d'hôtes et diversité des cycles | 13 |
| Figure 7 : Principaux signes cliniques, résultats de labo & diagnostic pour les patients souffrant d'une infection bénigne, modérée et sévère | 15 |
| Figure 8 : Evolution et répartition de la population de buffles en Thaïlande. | 18 |
| Figure 9 : Densité de population des buffles en Thaïlande et provenance des échantillons. | 18 |
| Figure 10 : Résultats de l'ELISA <i>T. evansi</i> pour les buffles. | 22 |
| Figure 11 : Evolution et répartition du cheptel porcin en Thaïlande | 28 |
| Figure 12 : Dispositif pour l'infection expérimentale chez le porcelet de <i>T. evansi</i> . | 29 |
| Figure 14 : Suivis cliniques des porcelets (<i>T. evansi</i>). | 30 |
| Figure 13 : Prélèvement sanguin au niveau de la veine jugulaire du porcelet | 30 |
| Figure 16 : Evolution de la DO des 4 porcelets au cours de l'expérience | 31 |
| Figure 15 : Evolution de la parasitémie au cours de l'infection chez P2 et P4. Sx.xx : prélèvement xx, semaine X PI. | 31 |
| Figure 17 : Gel d'électrophorèse des produits de la PCR obtenus avec les amorces TBR à partir d'échantillons des porcelets infectés (P2 & P4). | 32 |
| Figure 18 : Distribution des valeurs de PPR pour les échantillons de porcs face à <i>T. evansi</i> et <i>T. spiralis</i> (horizontale) au Vietnam et en Thaïlande (verticale). | 36 |
| Figure 19 : Localisation des échantillons au Vietnam et sérologie pour <i>T. spiralis</i> . | 38 |
| Figure 20 : Divergences NE/Sud de l'élevage de buffles | - 6 - |
| Figure 21 : L'élevage porcin type <i>backyard</i> à Chiang Raï, Thaïlande. | - 6 - |

Tableaux

| | |
|---|-------|
| Tableau 1 : Description générale des deux clades de <i>Trichinella sp.</i> (Pozio, 2007) : | 11 |
| Tableau 2 : Comment calculer la sensibilité (Se), la spécificité (Sp) et la valeur prédictive négative (VPN) et positive (VPP) d'un outil de diagnostic (ici l'ELISA) : | 20 |
| Tableau 3 : Sensibilité (Se), spécificité (Sp), valeur prédictive négative (VPN) et positive (VPP) de l'ELISA | 22 |
| Tableau 4 : Résultats sérologiques chez les buffles à l'échelle de la province, Thaïlande | 24 |
| Tableau 5 : Résultats sérologiques des provinces touchées par l'infection chez les porcs du NV | 35 |
| Tableau 6 : Résultats sérologiques chez les porcs dans 4 sub-distrits de la province de CR, Thaïlande | 37 |
| Tableau 7 : Solution pour conduire la PCR. | - 4 - |
| Tableau 8 : PCR ; étapes pour l'amplification de la région TBR | - 4 - |

Introduction

La trypanosomose à *Trypanosoma evansi* est une maladie sous-estimée et par conséquent négligée en raison d'une circulation à bas bruit en particulier chez le porc et le buffle. En effet, la majorité des animaux sont porteurs sains et font office de réservoir. Source perpétuelle d'infection pour les élevages susceptibles, l'infection se pérennise. Seule une faible proportion développera des symptômes peu pathognomoniques à la suite d'un stress ou bien ceux d'une infection concomitante. Suite à une confusion ou faute d'une parasitémie élevée, lors d'infection clinique ou sub-clinique, la maladie n'est pas diagnostiquée d'où la difficulté d'évaluer l'impact réel tant économique que sanitaire. Cette étude préliminaire vise à estimer la séroprévalence de l'infection chez les porcs et les buffles et avoir un aperçu de la situation épidémiologique actuelle.

Des cas de trichinellose humaine sont encore recensés de nos jours particulièrement dans les pays où les bonnes pratiques d'élevage, de gestion des déchets et une cuisson adéquate de la viande avant consommation font défaut. En effet, la maîtrise de ces seuls points suffirait à endiguer ce cycle. Malheureusement, le manque d'éducation et des pratiques culturelles encrées supplantent ces moyens de contrôle. C'est le cas du Nord de la Thaïlande et Nord-Vietnam où le sang et la viande de porc crue, source de contamination, sont traditionnellement utilisés lors de cérémonies (mariage, nouvel an, etc.).

L'épidémiologie de la trichinellose en Thaïlande est largement documentée, avec de nombreux foyers recensés particulièrement lors du Nouvel an. A contrario au Vietnam où les informations font défauts, la littérature ne fait état que de trois foyers. A noté cependant que les données ne concernent que l'élevage de basse-cour, l'occurrence au sein des autres systèmes d'exploitation est tout simplement omise ou négligée. Dans ce contexte, une enquête sérologique chez les porcs est une première étape pour l'étude de cette zoonose et un pré-requis en vue de moyen d'action.

Ce projet se propose de donner un bref aperçu de l'élevage de buffles en Thaïlande et de la filière porcine thaïlandaise et vietnamienne avant d'aborder l'aspect épidémiologique de la trypanosomose et de la trichinellose en Thaïlande et au Vietnam. Pour ce faire, divers enquêtes sérologiques, accompagnées de travaux de laboratoire, seront menées chez le porc et le buffle. Ces travaux regrouperont l'ensemble des outils usuels de diagnostic à travers la parasitologie, la sérologie, et la PCR. Une enquête fût initialement prévu sur les éléphants mais à défaut d'un nombre suffisant d'échantillons seule une description de l'élevage ainsi qu'un état des lieux succinct sera effectué ([Annexe 1](#)).

Parallèlement, une infection expérimentale de *T. evansi* sur porcelets sera conduite. Le premier intérêt étant de générer de bons contrôles et ainsi mener à bien l'ELISA/*T.evansi*, ceci permettra aussi d'entrevoir la fiabilité des outils usuels de diagnostic et de mettre en avant les manifestations cliniques de la maladie, s'il y a, chez les porcelets.

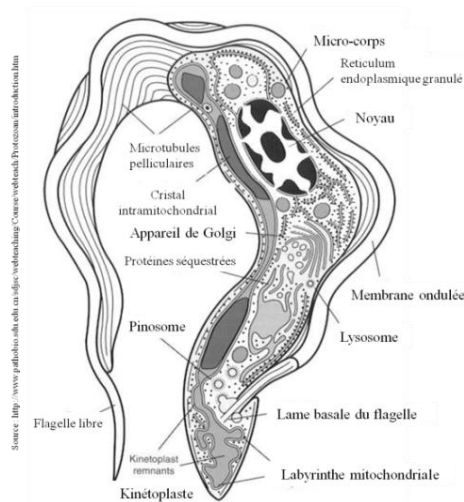
Partie 1 : Etude bibliographique

Chapitre 1 : Trypanosomose à *Trypanosoma evansi*

Trypanosoma evansi est un parasite sanguin et tissulaire appartenant à la famille des trypanosomatidés. Responsable de la maladie connue sous le nom de Surra, il a été isolé pour la première fois en 1880 dans la région de Punjab au Nord de l'Inde chez des chevaux et chameaux infectés ([Evans, 1910](#)). Ce parasite a la plus vaste répartition géographique connue de tous les trypanosomes pathogènes. En Asie, de part son large spectre d'hôte domestique et sauvage, il est sans conteste l'une des parasitoses les plus importantes ([Luckins, 1988](#)).

1. Le parasite

1.1. Morphologie



La morphologie globale de *T. evansi* est très similaire à la forme sanguine rencontrée chez *T. brucei* avec une extrémité postérieure effilée et un corps s'amincissant graduellement vers l'extrémité antérieure. Contrairement à ce dernier, *T. evansi* est très mobile grâce à son flagelle libre ($L = 4 \mu\text{m}$) et sa membrane ondulante très développée. Généralement monomorphe sous la forme sanguine dite forme longue ([Bruce, 1911](#) ; [Brun et al., 1998](#)), *T. evansi* peut mesurer entre 18 et 34 μm de longueur et 1,5 à 2 μm de largeur. Des formes courtes, trapues dépourvues de flagelle libre ont été recensées mais cela reste anecdotique ([Bruce, 1911](#)). Le noyau est situé au centre de l'organisme et le kinétoplaste en position subterminale (Figure 1 ; [Bruce, 1911](#) ; [Brun et al., 1998](#) ; [Schnauffer et al., 2002](#)).

Figure 1 : Morphologie de *T. evansi*.

1.2. Position phylogénique de *T. evansi* au sein des trypanozoons

Depuis plus d'un siècle *T. brucei*, *T. evansi* et *T. equiperdum* ont été considérés comme des espèces à part entière pour leurs caractères biologiques distinctifs : mode de transmission, spectre d'hôte, pathogénicité sans oublier la dyskinétoplastidie (Dk) chez *T. equiperdum* et l'akinétoplastidie (Ak) chez *T. evansi*. ([Brun et al., 1998](#) ; [Schnauffer et al., 2002](#)).

Hoare postula que *T. evansi* avait évolué de *T. brucei* en adoptant une transmission mécanique qui lui permit de s'affranchir de son vecteur biologique, la mouche tsétsé, en contre partie de son pléomorphisme. Il suggéra que des chameaux, en contact avec des mouches tsétsé en dessous de la ceinture du Sahara, auraient été infectés par *T. brucei* avant de rejoindre la côte méditerranéenne. L'infection aurait persisté par l'intervention d'autres insectes hématophages ([Hoare, 1972](#)). Divers travaux dans les domaines de la taxonomie, la génétique et la biochimie vont dans ce sens. En effet, il apparaît que *T. evansi* diffère de *T. brucei* uniquement au niveau de l'ADN kinétoplastique par l'absence de maxicercles homoplasmiques, d'où son incapacité à se multiplier au sein de la tsétsé, et par un manque de minicercles de séquences hétérogènes source de pléomorphisme ([Borst et al., 1987](#) ; [Songa et al., 1990](#)). La présence

d'une séquence similaire de minicercles dans les différentes souches de *T. evansi* suggère que *T. evansi* aurait divergé de *T. equiperdum* par la perte de l'ADN issu des maxicercles. Les analyses isoenzymatiques allant tout du moins dans ce sens (Figure 2 ; [Brun et al., 1998](#) ; [Luckins 1988](#)). Par ailleurs, la pression de sélection peut avoir évincé les différences existant entre les populations de minicercles ([Schnauffer et al., 2002](#)).

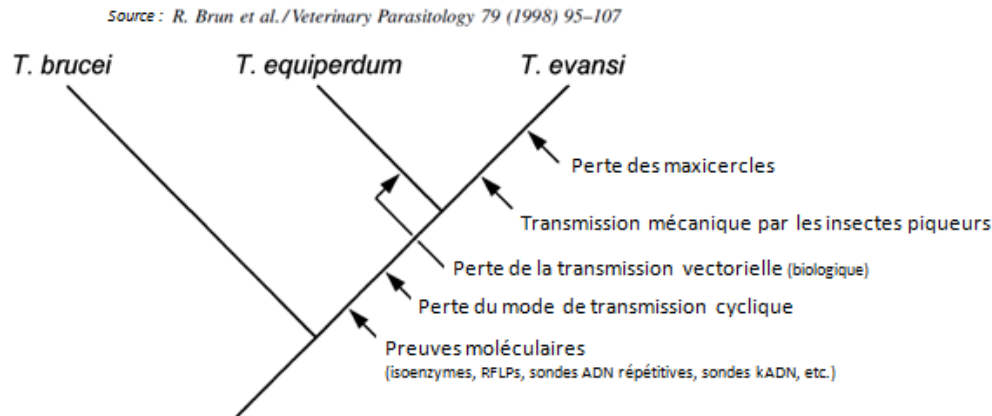


Figure 2 : Relations phylogénétiques proposées pour *T. brucei*, *T. equiperdum* et *T. evansi*

1.3. Distribution

T. evansi est le plus largement répandu des trypanosomes pathogènes. Il est certes présent en Afrique, berceau des trypanosomoses, mais aussi en Amérique, en Europe et en Asie.

En Amérique Latine/Centrale, sa présence remonte probablement au 16^{ème} siècle par son introduction via les équidés par les conquistadores ([Luckins, 1998](#)).

En Asie, le parasite s'implanta progressivement et durablement. Aujourd'hui, le surra est considéré comme étant endémique de cette partie du globe ([Luckins 1988](#)).

En Europe quelques foyers ont été déclarés ces dernières années, notamment en France ([Desquesnes et al., 2009a.](#)) et en Espagne ([Tamarit et al., 2010](#)), par l'importation de camélins en provenance des Canaries où le parasite fût observé pour la première fois en 1997 sur un dromadaire de Mauritanie ([Gutierrez et al., 2000](#)). D'après Hoare ([1972](#)), l'introduction occasionnelle de *T. evansi* au sein de pays indemne est le plus souvent le résultat de l'installation progressive de l'endémicité ; même si des exceptions sont possibles.

2. Hôtes et effets sur l'hôte

2.1. Principaux hôtes et pathogénicité

T. evansi a été exporté à travers le monde par des camélidés et des équidés qui sont historiquement ses principaux hôtes ([Hoare, 1972](#) ; [Luckins, 1998](#)). Aujourd'hui, ce parasite possède un large spectre d'hôte, tant domestique que sauvage, mais celui-ci est fonction de l'aire géographique considérée ([Luckins, 1998](#)). Quant à sa pathogénicité, celle-ci dépend de la souche, de l'espèce touchée associée aux facteurs non spécifiques l'affectant (stress, âge, infection concomitante) ainsi que des conditions épizootiques locales ([Hoare, 1972](#)).

Les signes cliniques sont peu pathognomoniques avec entre autres hyperthermie, anémie, émaciation, œdème, chute de la production. La détérioration de l'état général de l'animal aboutit à son décès en quelques semaines/mois dans le cas d'infection aiguë mais cela peut s'étaler sur plusieurs années lors d'infection chronique ([Brun et al., 1998](#)). Les espèces les

plus sensibles sont les camélidés, les chevaux et les chiens suivis des bovinés et loin derrière les porcs ([Gill, 1977](#)).

L'infection chez les camélidés, les chevaux et les chiens est sévère et l'issue souvent fatale sans traitement. Ceci se traduit entre autre par une fièvre intermittente, anémie, anorexie, œdème, lymphadénopathie, paralysie, atteinte nerveuse ([Eloy & Lucheis, 2009](#) ; [Gill, 1977](#)).

Pour les bovinés, le tableau clinique varie peu entre buffles et bovins avec anémie, anorexie, incapacité à travailler, avortement, et lors d'infections sévères : troubles respiratoires et neurologiques, cécité,... et une fièvre directement lié à la parasitémie. Les jeunes, les déficients et les mâles sembleraient plus sensibles même si l'infection, souvent asymptomatique, passe inaperçue. En effet, les premiers symptômes apparaissent lorsque l'animal est soumis à un stress comme une privation de nourriture ou lors d'infection concomitante ([Gill, 1977](#), [Dargantes, 2009](#) ; [Holland, 2001b](#), [Löhr et al., 1985](#)).

Les porcs sont quant à eux peu sensibles. L'infection en condition naturelle est bien souvent asymptomatique sinon peu pathognomonique avec fièvre, anorexie, affaiblissement et plus rarement paralysie, avortement et décès de l'animal ([Arunasalam et al., 1995](#) ; [Teeraprasert et al., 1985](#)). En condition expérimentale et selon la dose infectante, l'infection peut être bénigne, modérée (fièvre, faiblesse, diarrhée, anorexie, problème respiratoire) à sévère (spléno/hépatomégalie, avortement)([Dargantes 2006](#) ; [Gill, 1977](#) ; [Thepsumethanone et al., 1984](#); [Tuntasuvan et al., 2003](#)).

2.2. Immunosuppression induite par *T. evansi*

L'infection à *T. evansi* s'accompagne toujours d'une immunodépression quelque soit l'espèce considérée. Cela s'expliquerait en partie par une activation des lymphocytes B polyclonaux (CD5+), générant une grande quantité d'IgM aspécifiques voire auto-réactifs, une dépression des lymphocytes T ([Onah et al., 1998](#)) ainsi qu'une diminution de la concentration des facteurs du complément dans le sang.. Par cette immunodépression, l'animal est moins à même à faire face aux agressions extérieures. *T. evansi* peut alors se développer et proliférer dans l'organisme. Chez les chèvres co-infectées par *Haemonchus contortus*, il a été démontré que la période prépatente était diminuée et la production de L3 favorisée d'où une pathogénicité aggravée ([Sharma et al., 2000](#)). Cette immunodépression est aussi favorable à l'implantation de maladies opportunistes comme la FH ou la fièvre aphteuse chez les bovinés.

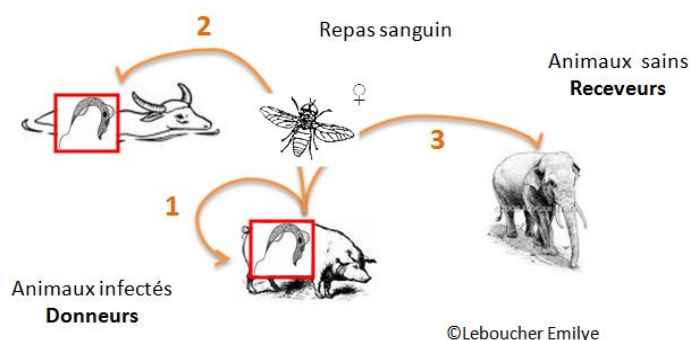
Aux pathologies intercurrentes s'ajoute la compromission de la réponse immunitaire protectrice déclenchée par la vaccination. Chez les buffles, la capacité d'induire une réponse à médiation cellulaire et humorale à l'encontre d'antigènes hétérologues est supprimée chez les animaux infectés par *T. evansi*. Ceci remet en question l'efficacité d'une vaccination là où *T. evansi* est endémique. En effet, une faible protection des buffles au Vietnam vis-à-vis de *Pasteurella multocida*, agent de la FH, a été observée ([Holland et al., 2001b](#)). Cependant, ceci est remédiable par l'administration de trypanocides. L'animal est alors capable de développer une réponse comparable à celle des individus sains ([Singla et al., 2009](#)). Le même constat a été fait chez les porcs, pourtant tolérants à l'infection, avec une moindre réponse immunitaire lors de vaccination (PPC / FH). La protection contre la PPC étant peu ou pas effective (fièvre, leucopénie), ceci compromet la stratégie vaccinale rendant caduque les programmes de lutte ([Holland et al. 2003](#)).

3. Epidémiologie

3.1 Persistance de l'agent

Ce parasite, très fragile, persiste peu de temps dans du sang frais (≈6h) et une exposition directe au soleil pendant 30 min est létale ([Holland et al., 2001a.](#)). Il ne peut survivre plus d'une journée à température ambiante dans l'environnement ou après la mort de son hôte ([AUSVETPLAN, 2006](#)). Son espérance de vie est très limitée au niveau des pièces buccales de l'insecte, allant de quelques minutes à quelques heures, sachant qu'il est admis que la transmission est effective si le prochain repas a lieu dans l'heure qui suit ([Luckins, 1998](#)).

3.2 Mode de transmission



Trypanosoma evansi, par l'absence de maxicercles, est incapable de se différencier ou même de proliférer au sein de la mouche tsétsé ([Borst et al., 1987](#), [Songa et al., 1990](#)). C'est pourquoi la transmission de *T. evansi* est, contrairement aux autres trypanosomes du groupe salivaria¹, non plus cyclique mais mécanique ([Brun et al, 1998](#) ; [Luckins 1988](#)).

Figure 3 : Transmission de *Trypanosoma evansi* : Transmission mécanique lors du repas sanguin d'un tabanide sur un hôte infecté dit donneur (1) interrompt son repas pour le continuer sur le même hôte (1) ou sur un hôte différent infecté (2) ou sain (3) dit receveur

Elle est assurée par divers insectes hématophages : *Tabanus Chrysops*, *Haematopota*, *Stomoxys*, *Lyperosia*, *Hippobosca* et *Glossina* mais de manière mécanique ([Antoine-Moussiaux & Desmecht, 2008](#)). Leur rôle en tant que vecteur varie selon plusieurs facteurs : abondance, comportement alimentaire, susceptibilité de l'hôte, prévalence de la maladie, taux de parasitémie chez l'hôte infecté... (Figure 3 ; [Muzari et al., 2010](#)).

Les tabanides, plus de 4000 espèces, sont largement présents sur l'ensemble du globe et abondent en saison des pluies ([Baldwin et al., 2005](#)). La morphologie de leurs pièces buccales empêche au sang de sécher et les obligent à interrompre leur repas par la douleur que génère la piqûre. A cela s'ajoute leur hypersensibilité, 5s suffisent pour acquérir le parasite. Toutes ces caractéristiques font de cet insecte le principal vecteur de *T. evansi* ([AUSVETPLAN, 2006](#) ; [Luckins, 1988](#) ; [Muzari et al., 2010](#)).

A noter en Amérique Latine que les chauves-souris vampires *Desmodus rotundus*, vecteur biologique, peuvent transmettre elles aussi le parasite par morsures ([Hoare, 1972](#)).

Le rôle des rongeurs, des sangsues et des tiques dans le cycle de transmission de *T. evansi* n'a pas encore clairement été identifié même si une faible parasitémie a été observée chez les rongeurs ([Rademaker et al, 2009](#)). Néanmoins, les résultats peu concluants de l'étude préliminaire de Vergne ([2009](#)) ne vont pas dans le sens d'une transmission aisée.

D'autres modes de transmissions mécaniques sont cités dans la littérature mais anecdotiques au regard de la transmission vectorielle mécanique ([Williams, 2003](#)). Ainsi des cas de transmission directe par consommation de viande infectée ou contact avec du sang lors de

¹ A noté la transmission sexuelle et non vectorielle de *T. equiperdum*, agent de la Dourine chez les équidés.

combat sont largement documentés ([Herrera, 2004](#) ; [Raina et al., 1985](#) ; [Silva et al., 2007](#)). Il a été démontré que cette voie de transmission était dépendante de l'espèce hôte ([Silva et al., 2007](#)) mais aussi des caractéristiques propres de l'hôte ([Raina et al., 1985](#)). Des cas de transmission lors du coït ([Uche, 1992](#) ; [Wang, 1988](#)), par voie transplacentaire ([Pathak et al., 1999](#)) ou via le lait ([Wang, 1988](#)) ont été recensés mais nécessiteraient d'être approfondie. Enfin, il ne faut pas oublier le rôle de l'homme et de sa seringue particulièrement lors de campagne de prophylaxie. La transmission iatrogène n'est pas à négliger même si l'impact réel est difficilement quantifiable ([FAO, 1998](#) ; [Reid, 2002](#)).

3.3 Facteurs de risque

Le surra est transmis mécaniquement par des insectes hématophages. Ainsi, tout facteur favorisant leur prolifération et leur extension est à risque autrement dit les conditions climatiques : humidité importante et température avoisinant les 32°C ([Foil et Hogsette, 1994](#) ; [Luckins, 1988](#)). Au regard de la région considérée et des conditions bioclimatiques au cours de l'année, le pic d'abondance des tabanides sera observé à des moments différents ([Antoine-Moussiaux et Desmecht, 2008](#)). C'est ainsi que la saison à risque correspond aux 6 mois de la saison des pluies au Brésil ([Herrera, 2004](#)) et au début de la saison des pluies (juin/juillet) et à la saison hivernale en Thaïlande ([Kashemsant, 1989](#)).

La composante environnementale doit aussi être mentionnée. Une aire géographique semblant homogène est composée de micro-habitats dans lesquels les populations de tabanides, tant en terme d'abondance que d'activité, évoluent différemment ([Muzari et al., 2010](#)) avec par exemple la présence d'une zone boisée aux abords d'un point d'eau temporaire ou permanent ([Dia et al., 1997a](#)). C'est ainsi qu'au Kenya, où le *ranching* et le nomadisme sont pratiqués, Ngaira et al. (2002) ont mis en avant un risque d'infection plus accru pour ce second système de même qu'au Soudan et en Mauritanie entre les élevages agropastoraux et nomades de camélidés ([Dia et al., 1997a](#) ; [Elamin et al., 1998](#)). C'est pourquoi la conduite de l'élevage, associée à la composante environnementale, est un facteur de risque important qui concourt aussi à la saisonnalité de la maladie. Les points d'eaux se faisant rare, les regroupements d'animaux plus denses et plus fréquents au fur et à mesure que la saison sèche avance, favorisent le contact entre animaux sauvages/domestiques, animaux sains/porteurs/malades et les mouches piqueuses ([Antoine-Moussiaux et Desmecht, 2008](#), [Dia et al., 1997a](#)).

La saisonnalité de la maladie peut s'expliquer aussi en partie par le stress auquel les animaux sont soumis. Au Nord du Vietnam, dans le delta du Fleuve Rouge, plusieurs foyers de surra ont été reportés chez les buffles lors de la transhumance des hauts plateaux aux villages. Ici, les effets adverses du stress engendré par le travail et la malnutrition sont à l'origine des pics de parasitémie ([Luckins, 1988](#)).

Les caractéristiques intrinsèques de l'animal sont aussi déterminantes avec tout d'abord la réduction de la compétition interspécifique ([Hollander & Wright, 1980](#)) :

☞ La longueur des poils de chaque partie du corps de l'hôte et les pièces buccales des tabanides ([Mullens et Gerhardt, 1979](#)).

☞ l'intensité des mouvements de défense de l'hôte selon la région du corps considérée ([Hribar et al., 1992](#))

☞ la [CO₂] entre la partie antérieure et postérieure de l'animal ([Mullens et Gerhardt, 1979](#)). [Muzari et al. \(2010\)](#) ont ainsi observé que la partie du corps la plus exposée était fonction de l'hôte et de l'espèce de tabanides et que les porcs étaient plus sujets aux piqûres que les chevaux en ignorant complètement les insectes qui se nourrissent tranquillement.

Enfin, le sexe de l'animal pourrait expliquer la sensibilité de certains animaux face au surra. Pourtant à Sind au Pakistan, les camélidés femelles ont présenté une prévalence plus élevée que les mâles ([Shah et al., 2004](#)) alors que la tendance inverse a été observé au Kenya par Njiru et al. (2004). En Mauritanie, une différence significative entre les deux sexes a été mise en avant du point de vue sérologique mais non parasitologique ([Dia et al. 1997b](#)). Ceci montre que les prédispositions biologiques ne sont pas la cause mais plutôt une conséquence des différences dans la conduite de l'élevage entre les deux sexes et par extrapolation des conditions climatiques.

Pour ce qui est de l'âge, une augmentation de la prévalence au fil des classes a été observée comme chez les buffles ([Dargantes et al., 2009](#) ; [Davison et al., 2000](#) ; [Payne et al., 1991](#)), les bovins ([Desquesnes et al., 2009b](#)) et les camélidés ([Dia, 1997b](#), [Elamin et al., 1998](#) ; [Njiru et al., 2004](#) ; [Shah 2004](#)). Comme précédemment, il semblerait que ceci soit un effet cumulatif et illustrerait la chronicité et la persistance de l'infection au sein d'un troupeau, les guérisons spontanées ainsi que les guérisons effectives après traitements se faisant rares.

4. Le Surra

4.1. Outils de diagnostic

Les signes cliniques peu pathognomoniques ne sont pas suffisants pour identifier l'infection, d'où le recours à d'autres méthodes de diagnostic pour confirmer la présence avérée ou non du parasite dans l'organisme. La mise à disposition d'outils alliant spécificité et sensibilité tout en étant bon marché et utilisable à grande échelle pour une lutte épidémiologique efficace font encore défaut aujourd'hui même si la recherche va actuellement dans ce sens. Malgré cela, une confrontation des divers outils déjà disponibles permet de pallier en partie ces aspects.

La méthode classique de diagnostic est le dépistage par observation au microscope d'étalement de sang frais. Très spécifique, cette méthode est en revanche peu sensible (10^{4-5} tryps/ml), la parasitémie étant souvent faible lors d'infections chroniques ([Gill, 1977](#)). Dans le cadre d'enquête épidémiologique quelle qu'elle soit, l'accent est mis sur l'utilisation de tests sérologiques, basés sur la détection d'anticorps ou d'antigènes circulant dans le plasma.

L'ELISA indirect (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) permet de diagnostiquer un grand nombre de maladies provoquées par les protozoaires, incluant les trypanosomoses, et de détecter spécifiquement les anticorps, les IgG, présents chez les individus infectés par *Trypanosoma spp.* Abordable, très sensible, cette méthode est possible sur le terrain et applicable à grande échelle d'où son intérêt lors d'enquête ([OIE, 2005](#)). De plus, les problèmes de spécificité possible entre trypanozoons ne se posent pas en Thaïlande où seul *T. evansi* est présent (en omettant *T. equiperdum*) ([Luckins, 1988](#)).

Le CATT, ou Card Agglutination Test for Trypanosomiasis, est un test direct d'agglutination permettant de détecter la présence d'anticorps circulant, les IgM, dans le sérum ou le plasma d'animaux étant entrés récemment en contact avec le parasite et que l'ELISA, par l'absence de séroconversion, considèrerait comme sain ([Davison et al., 1999](#)). Il est facile d'emploi et peu coûteux.

Malheureusement, ces deux outils ont leurs limites. De part la diversité des espèces hôtes, l'ELISA doit être standardisé pour chaque espèce et donc chaque contexte épidémiologique ([Desquesnes, 1997](#)) et il en est de même pour le CATT, théoriquement indépendant de l'espèce hôte. En effet, si il offre des résultats satisfaisants chez les buffles ([Davison et al., 1999](#), [Verloo et al., 2000](#)) ou les camélidés ([Dia et al., 1997b](#)) il n'en est pas de même pour

les porcs. Holland *et al.* (2005) ont en effet obtenu, pour des échantillons théoriquement négatifs, des résultats positifs spécialement lorsque les sera étaient utilisés au 1:4.

A cela s'ajoute la présence de réactions croisées avec d'autres agents pathogènes comme *T. vivax* en Amérique Latine, *T. equiperdum* chez les chevaux en Asie du Sud Est pour l'ELISA et les babésioses pour le CATT.

Enfin, un résultat positif peut s'expliquer par une actuelle infection ou par la présence d'anticorps résiduels d'une précédente infection ou de la mère dans le cas de jeunes animaux. Ces tests ne permettant pas d'écarter l'une ou l'autre des hypothèses, l'établissement du diagnostic final reste difficile. C'est pourquoi, ils sont complétés par des méthodes parasitologiques (Woo, 1971), certes peu sensibles (10^{2-3} tryps/ml) mais très spécifiques, ou moléculaire via la PCR. Spécifique et très sensible (Masiga *et al.*, 1992), elle est malheureusement coûteuse et peu reproductible à grande échelle (OIE, 2005). Ces outils ne détectent guère la même chose ce qui explique l'intérêt de les utiliser en synergie (Figure 4).

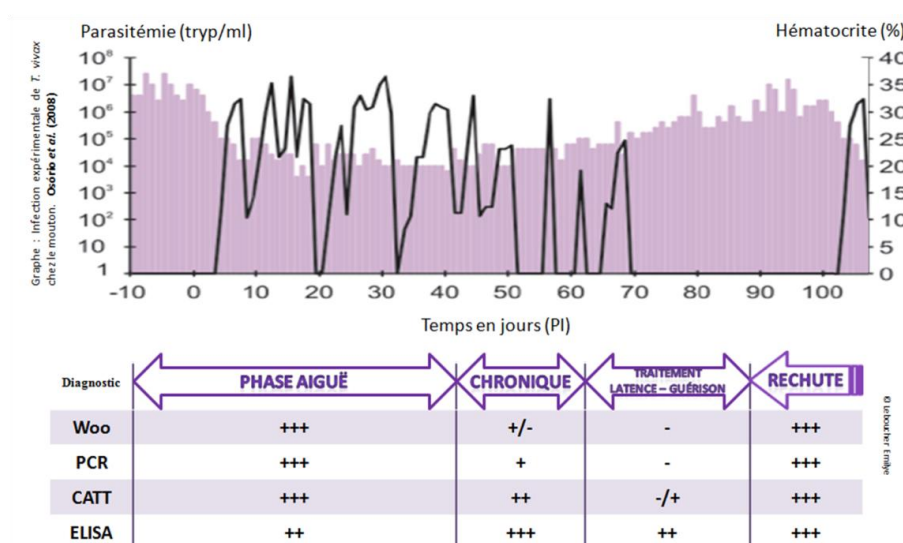


Figure 4 : Sensibilité des principaux outils de diagnostic au cours d'une infection à *Trypanosoma* spp. : Ne visant pas la même chose chaque outil aura une sensibilité variable en relation directe avec le taux de parasitémie et/ou d'Ig circulantes. La parasitémie évoluant différemment selon la phase de l'infection considérée et fluctuant considérablement au cours de chacune d'elles, sera fonction de la situation épidémiologique (enzootie/épizootie, animal affecté...) dans lequel on se trouve.

4.2. Moyens de contrôle, prévention et traitements

Le contrôle de l'infection à *T. evansi* est aussi délicat que les informations épidémiologiques font défaut. Cependant diverses mesures peuvent être prises pour limiter sa propagation.

Ce contrôle passe tout d'abord par la chimio-prophylaxie avant la saison des pluies pour prévenir l'infection chez les animaux sensibles et permettre une administration immédiate et appropriée des traitements aux animaux malades (Ozawa, 1998). Ceci permet de limiter la propagation de la maladie en réduisant le risque d'infection et le développement du statut de porteur. Cela fait appel à un emploi raisonné et adapté des trypanocides en gardant à l'esprit :

✎ le problème de la pharmacorésistance propre à chaque région

Seulement 5 trypanocides sont disponibles pour traiter l'ensemble des animaux d'où l'apparition de résistance chez certaines souches de *T. evansi* comme en Chine (Zhou *et al.*, 2004). Le suramin a largement été utilisé et ce pendant plus de 70 ans. Le quinapyramine et depuis peu la mélarsamine (Cymelarsan®) sont utilisés pour les camélidés et les équidés, le

chlorure d'isometamidium (Samorin®) et l'acéturate de diminazène (Bérénil®) pour les bovins ([Indrakamhang, 1994](#) ; [Kashemsant et al., 1989](#) ; [Luckins, 1998](#)).

✎ la diversité des espèces hôtes

Ces différentes molécules ont une efficacité et une toxicité variable selon l'animal traité. Selon Indrakamhang ([1994](#)) une faible dose (3,5 mg/kg) d'acéturate de diminazène suffit à traiter les vaches laitières tandis que Kashemsant *et al.* ([1989](#)) montra, 5 ans plus tôt, l'échec du traitement si celui-ci n'était pas administré aux buffles en doublant la dose de celle recommandée (8 voir 10 mg/kg).

✎ que prévention et traitement sont deux choses différentes.

C'est ainsi que le chlorure d'isometamidium s'est avéré plus efficace en prévention qu'en traitement d'après Dowler *et al.* ([1989](#)) s'opposant à Kashemsant *et al.* ([1989](#)) qui énonça que l'efficacité était avérée pour les deux situations. Quoiqu'il en soit, il est nécessaire, surtout lors de multiples résistances, d'orienter la recherche vers de nouveaux agents chimiothérapeutiques en n'omettant pas le pouvoir des plantes médicinales comme *Vitis repens*, *Brucea javanica* ou *Eucalyptus globulus* qui présenteraient une forte activité antitrypanosomale ([Bawn et al., 2008](#) & [2010](#)). D'autres pistes comme la vaccination sont envisagées avec des résultats encourageants obtenus chez des rongeurs via de la β -tubuline recombinée ([Li et al, 2007](#)).

✎ le caractère immunosuppresseur des trypanosomes

L'interférence de l'infection sur le développement de l'immunité protectrice conférée par un vaccin montre le caractère essentiel du traitement des animaux contre le surra lors de campagne de vaccination (cf 2.2) ([Holland, 2001b.](#) ; [Holland 2003](#)).

Ensuite, la surveillance de la maladie et un suivi régulier des animaux apparemment sains, jouant le rôle de réservoir ([Muzari et al, 2010](#)), et importés semble indispensable. Mais une logistique tant en amont qu'en aval des outils de diagnostic ainsi que des moyens sanitaires ([Ozawa, 1998](#)) est nécessaire. En effet, l'importation d'animaux reste un point critique comme par exemple aux Philippines où la venue de buffles bulgares et murrachs serait à l'origine de nombreux foyers ([Reid, 2002](#)). Malheureusement, ces points faibles sont communs à la majorité des pays en voie de développement ([Ozawa, 1998](#)).

Enfin, la notion d'éradication des tabanides et autres mouches piqueuses par pulvérisation d'insecticides est souvent citée même si cela semble irréalisable tant du point de vue économique, sanitaire qu'environnementale ([Foil et Hogsette, 1994](#)).

4.3. L'importance du Surra

L'impact du surra n'est que le contre coup des manifestations cliniques (cf 2.1) induite par *T. evansi*. Pour l'éleveur, ceci se traduit par une dévalorisation du bétail lors de la vente et une chute de la production tant à court terme via la viande, le lait, qu'à long terme à travers la descendance (avortement, infertilité, retard de croissance) et la détérioration progressive de l'état général de l'animal jusqu'à son décès ([Gill, 1977](#) ; [Reid, 2002](#)). A cela s'ajoute les coûts associés aux soins vétérinaires non négligeables en cas de sous-dosage, récurrence, infection concomitante.

Plus globalement, le portage chronique asymptomatique et l'immunodépression provoquée par cet organisme à des conséquences catastrophiques tant sanitaire qu'économique à travers les exportations ou lors de campagne vaccinale (cf 2.2) par exemple ([Dobson et al., 2009](#)).

Malheureusement, estimer le coût de cette maladie reste difficile et l'impact sur la production souvent sous-estimé. La majorité des animaux sont porteurs et seule une faible proportion développera des symptômes soit peu pathognomonique soit ceux d'une infection concomitante. De plus, les données de l'impact économique dans le cas d'infection sub-clinique font cruellement défauts. Néanmoins, la littérature mentionne différentes études sur ce sujet. A titre d'exemple aux Philippines en 2002-6 Dargantes *et al.* (2009) ont observé que la fitness des animaux était particulièrement affectée. Ainsi, un taux de fécondité de 15% a été observé chez ces animaux contre une prédiction de 47,5% (modèle Dobson *et al.*, 2009) lorsque qu'ils sont indemnes. Ceci pourrait s'expliquer par une infertilité des taureaux ou par la dégradation de l'état général de la femelle. Sur 9 ans, les pertes économiques ont été chiffrées à >1,1 millions US\$ en ne tenant compte que des décès omettant donc les frais vétérinaires et la chute de production (prix de vente de -40%) ; la réalité est sûrement 5 fois supérieure (Reid, 2002).

Enfin, le modèle développé par Dobson *et al.* (2009), même si cela reste non exhaustif, donne un aperçu de ce que peut-être la réalité. Ceci permettra, peut-être un jour, d'alerter les autorités et de sensibiliser l'opinion publique quant à cette maladie jusqu'alors négligée et ignorée des campagnes sanitaires.

4.4. Situation en Thaïlande et au Vietnam

Le parasite est mentionné pour la première fois au Vietnam en 1888 chez les mules puis les équidés les années qui suivirent. Les buffles en zone montagneuse présente une séroprévalence de 10% contre 60% dans le Delta du fleuve rouge. Lors des déplacements entre les deux zones, de nombreuses pertes sont à déplorer suite au stress auquel sont soumis les animaux. (Luckins, 1988). La littérature dispose trop peu d'information sur la situation réelle du pays.

En Thaïlande, la maladie a été mise en avant en 1949 chez un porc mais il fallut attendre 1984 pour le rapporté comme un cas de surra. La première investigation a été menée en 1980 sur 1396 buffles dans la région NE (15 provinces) et une prévalence de 16,6% (fixation du complément) a été observée en 1981 (Löhr *et al.*, 1985). Sur la période 1984-1989, un total de 25,47 et 20 foyers fût recensé respectivement pour les bovins, buffles et chevaux. Les infections se déclaraient préférentiellement durant la saison des pluies et l'hiver. En 1986, une enquête épidémiologique à Mahasarakam dévoila la récurrence de coinfection chez les buffles particulièrement avec la fièvre hémorragique (FH), 20,3% des infectés (Kashemsant *et al.*, 1989). En 1988, Nishikawa *et al.* (1990) ont observé des prévalences de 38,6% et 50% (IFAT) pour les buffles et les bovins et notèrent une grande disparité entre les régions. Pour les porcs, quelques foyers ont été déclarés généralement suite à un fort taux d'avortement chez les truies (Teeraprasert, *et al.*, 1985 ; Thepsumethanone *et al.*, 1984). Néanmoins, l'épidémiologie de la maladie dans les élevages porcins est entourée de zones d'ombres, l'infection étant souvent inaperçue. La littérature fait état aussi de cas sporadiques chez les éléphants (Watcharin *et al.*, 2004).

Les animaux sauvages ne sont pas en reste avec des cas d'infection chez les cerfs Sambar (*Cervus unicolor*), cerfs Rusa (*C. timorensis*) et cerfs cochons (*C. porcinus*) (Indrakamhang, 1998).

Chapitre 2 : Trichinellose à *Trichinella spiralis*

La trichinellose est une maladie parasitaire causée par un nématode méso-endoparasite du genre *Trichinella*. Il existe en tout et pour tout 8 espèces affectant largement la faune sauvage de tous les continents (Tableau 1), à l'exception de l'Antarctique, ainsi que les porcs domestiques de nombreux pays ([Pozio, 2007](#)). Chez l'homme, la majorité des infections et décès amputée à la trichinellose est globalement due à *Trichinella spiralis* suite à la consommation de viande crue ou mal cuite de porc ([Pozio et Zarlenga, 2005](#)).

1. Le parasite

1.1. Le genre *Trichinella*

Ce genre regroupe le clade des encapsulés et des non-encapsulés. Le premier doit son appellation par la présence d'une capsule de collagène autour de la larve lorsque celle-ci est enkystée dans le muscle de l'hôte. Ce clade, ayant la particularité de n'affecter que les mammifères, regroupe 5 espèces et 3 génotypes. Le deuxième, regroupant 3 espèces, se distingue du premier par l'absence de capsule et un spectre d'hôte plus large en affectant mammifères, oiseaux (1 espèce) et reptiles (2 espèces) (Tableau 1 ; [Pozio et Zarlenga, 2005](#)).

Tableau 1 : Description générale des deux clades de *Trichinella* sp. (Pozio, 2007) :

| Clade | Génotypes | Espèces | Hôte | Distribution |
|----------------------------|-----------------------|-----------------------------|-----------------------|---|
| I : encapsulés | | <i>T. spiralis</i> T1 | Mammifères | Cosmopolite |
| | <i>Trichinella</i> T6 | <i>T. nativa</i> T2 | | T6 : Canada, USA T2 : Zone arctique / subarctique holoarctique |
| | <i>Trichinella</i> T8 | <i>T. britovi</i> T3 | | Afrique du Sud (T8), N et O (T3) Zone tempérée paléoarctiques |
| | | <i>T. murrelli</i> T5 | | Zone tempérée néoarctiques |
| | <i>Trichinella</i> T9 | | | Japon |
| | | <i>T. nelsoni</i> T7 | | Afrique de l'Est |
| II : non-encapsulés | | <i>T. pseudospiralis</i> T4 | Mammifères Oiseaux | Cosmopolite |
| | | <i>T. papuae</i> T10 | Mammifères | Papouasie-Nouvelle-Guinée |
| | | <i>T. zimbabwensis</i> T11 | Reptiles | Ethiopie, Mozambique, Zimbabwe |

1.2. Biologie : généralités

1.2.1 Morphologie générale

Trichinella spp. comporte un stade larvaire, via des larves migrantes (=Newborn Larvae (NBL)) ou L1 enkystée, et un stade adulte. A l'exception des NBL, ce parasite présente un très fort dimorphisme.

Les mâles adultes sont de petites tailles (L : 0,62-1,58 mm ; ϕ : 0,025-0,033 mm) comparés aux femelles (L : 1,26-3,35 mm ; ϕ : 0,03-0,038 mm) où des œufs sphériques sans véritable coque (ϕ : 0,030-40 μ m) peuvent être vus dans l'utérus.

Les larves enkystées correspondent au premier stade larvaire L1, les autres mues de la L1 à l'adulte se feront dans le nouvel hôte. La L1 se montre enroulée sur elle-même dans une cavité ovoïde circonscrite par une paroi composée de fibres de collagène. Les femelles sont, comme pour les adultes, plus imposantes (L : 0,71-1,09 mm ; ϕ : 0,025-0,04 mm) que les mâles (L : 0,65-1,07 mm ; ϕ : 0,026-0,038 mm). Pour finir, les NBL (L : 110 μ m ; ϕ : 0,007 mm), stade intermédiaire, présentent des caractères morphologiques primitifs de la future L1 ([FAO/WHO/OIE, 2007](#)).

1.2.2 Cycle de vie de *Trichinella* spp.

Ces nématodes ont la particularité d'engendrer deux générations au sein du même hôte qui est donc successivement hôte définitif et intermédiaire. *T. spiralis* ne déroge pas à la règle avec une phase parentérale dans un premier hôte et une phase entérale dans un deuxième hôte. Ceci va débiter par la consommation de viande crue ou mal cuite de porc. Les sucs gastriques vont, par digestion de l'enveloppe ligneuse, libérer les larves enkystées présentes dans les muscles striés. De l'intestin grêle, elles vont pénétrer dans les muqueuses intestinales et, après 4 mues successives (10 à 28h PI), aboutir aux adultes. La femelle, par reproduction sexuée (30 à 34h PI), libère de nouvelles larves (NBL) (500 à 1500) puis meurent 2 semaines plus tard. Ces NBL vont migrer, s'enkyster dans un muscle strié, initier leur développement et devenir des L1 infectantes sous 15 jours (Figure 5 ; [Capo & Despommier, 1996](#)).

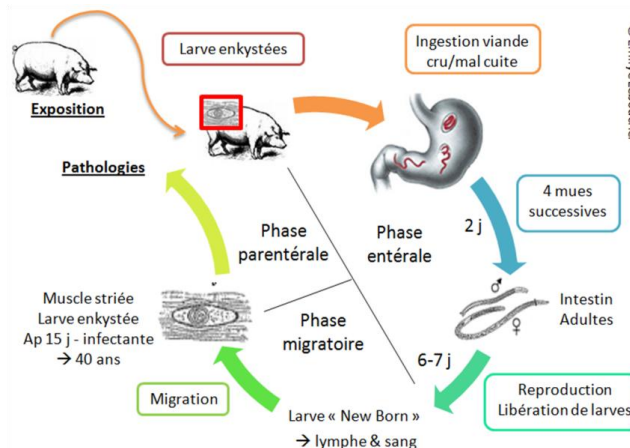


Figure 5 : Cycle de vie de *Trichinella spiralis*

2. Epidémiologie de *Trichinella spiralis* chez l'homme

2.1. Répartition géographique et situation épidémiologique mondiale

Les données épidémiologiques disponibles divergent d'un pays à l'autre et l'espèce incriminée est souvent inconnue. Néanmoins, *T. spiralis* reste le plus largement documenté de part sa découverte, première espèce du genre (Owen, 1835), et de son importance en tant que zoonose ([Capo & Despommier, 1996](#)).

La dissémination de ce parasite et de ses hôtes aux Amériques, Nouvelle-Zélande, Hawaï, Egypte a largement été facilitée par les colons européens et leurs animaux durant la période du 16^{ème}-20^{ème} siècles. Aujourd'hui, la maladie est présente sur l'ensemble du globe à l'exception de l'Antarctique (cf 2.2. ; [Mitrev & Jasmer, 2006](#)).

En Afrique, quelques cas chez la faune sauvage (rat, sanglier) et domestique (porc, chien) sont relatés mais les cas humains restent anecdotiques de part la religion musulmane ([Pozio, 2007](#)).

En Amérique Latine, la trichinellose chez l'homme et l'animal est courante où l'information est disponible. Chaque année en Argentine des foyers chez l'homme sont régulièrement déclarés (1000cas/an). Au Mexique, entre 1952-97, 766 cas (14 décès) ont été recensés et la prévalence chez le porc s'échelonnait de 0,04% à 6,0% entre 1986-99. ([Pozio, 2007](#)).

Au Canada, le dernier foyer faisait suite à la consommation de gibier. Depuis plus de 10 ans aucune infection n'a été observée chez le porc. Aux Etats-Unis, la viande bio ou externe au circuit commerciale est dorénavant l'unique source de contamination. En effet, le parasite est

largement distribué dans la faune sauvage tandis que le cycle domestique est peu présent ([Pozio, 2007](#)).

En Asie, le manque d'information comme au Cambodge, Myanmar, Kirghizstan, ne permet pas de connaître l'état de la maladie. En Indonésie, Malaisie, Israël, Afghanistan, des infections chez la faune sauvage et domestique sont relatées mais les cas humains restent anecdotiques de part la prédominance des communautés musulmanes. En Inde, peu de cas sont reportés : végétarisme et/ou sous diagnostic. En Chine, c'est l'une des plus importantes maladies alimentaires d'origine parasitaire avec l'exemple de la province de Yunnan qui dénombra plus de 20 000 infections (213 décès) entre 1964 et 1997. La situation en Asie du Sud-est sera développée plus loin ([Pozio, 2007](#) ; [Takahashi, 2000](#)).

Pour terminer en Europe, bastion de la trichinellose, les situations sont aussi diverses qu'il y a de pays et de cycles. Des pays comme la Croatie, la France, la Finlande présentent une forte prévalence de *T. spiralis* chez la faune sauvage alors que pour d'autres le compartiment humain et/ou domestique est plus affecté, particulièrement en Europe de l'Est. Une faible prévalence persiste au Pays-Bas (cycle sylvatique, \emptyset homme) ou en Allemagne, (cycle sylvatique+homme). Enfin, l'incidence est nulle ou aucun foyer n'a été mis en avant en Belgique, Irlande et Danemark, tant chez l'homme que chez le porc ([Pozio, 2007](#)).

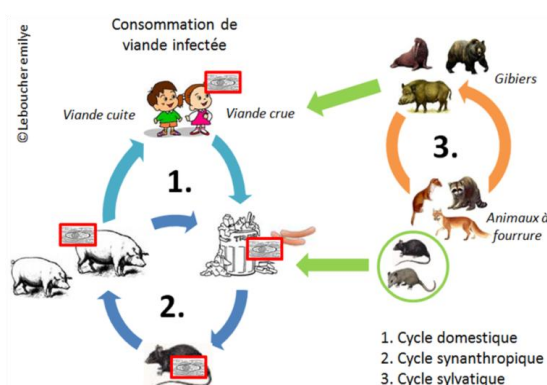
2.2. Persistance de l'agent et transmission

Une des étapes décisives dans la pérennisation du cycle est la persistance de la larve enkystée dans le muscle. Sa capacité à survivre au sein de carcasses en décomposition est une adaptation fondamentale. En effet, la probabilité d'être ingérée par un nouvel hôte sera d'autant plus grande que la viabilité de la larve sera importante.

Son métabolisme, essentiellement anaérobique, favorise sa survie au sein de tissus en putréfaction mais pas seulement. En effet, sa persistance dépend aussi des conditions environnementales : taux d'humidité important associé à de faibles températures forment un environnement optimal ([Mitreva & Jasmer, 2006](#)). Cependant, contrairement à ses congénères *T. britovi*, *T. nativa* et *Trichinella T6*, *T. spiralis* est incapable de survivre à la congélation. Sa capacité de survie est donc moindre comparée à ces dernières ([Pozio et Murrell, 2006](#)). Expérimentalement, il peut survivre à une congélation de -10°C au sein d'une souris pendant 12-48h ([FAO/WHO/OIE, 2007](#)).

La transmission s'effectue par consommation de viande crue/mal cuite infestée de kystes larvaires. L'infection sera effective par maturation des larves en adultes et sera fortement conditionnée par leur capacité de survie et la probabilité de rencontre avec un nouvel hôte.

2.3. Principaux hôtes



T. spiralis est l'espèce identifiée dans 87%, 67%, 88%, 79% des isolats respectivement de porcs domestiques, sangliers, chevaux domestiques, rats synanthropes ([Pozio & Murrell, 2006](#)). Cette diversité d'hôtes se traduit par plusieurs cycles : cycle domestique (Fig. 6.1), cycle synanthropique (Fig. 6.2) et cycle sylvatique (Fig. 6.3).

Figure 6 : *T. spiralis*, large spectre d'hôtes et diversité des cycles

2.3.1 Cycle sylvatique et interaction avec l'Homme

La transmission de *T. spiralis* à la faune sauvage est conditionnée par sa présence, actuelle ou passée, dans l'habitat domestique. Sa faible prévalence chez certains carnivores de zone aride/polaire ou vivant loin de milieux anthropisés s'explique par sa sensibilité aux températures extrêmes et sa dépendance au cycle domestique ([Appleyard et al., 2002](#)).

Dans de nombreuses régions du monde, cette espèce a été transmise à la faune sauvage via les eaux grasses aux abords des habitations ou l'abandon de carcasses par les chasseurs ([Pozio, 2000](#)). Ainsi des animaux comme le blaireau (*Meles meles*), les vulpins (*Pseudolopex gracilis*, *Vulpes vulpes*, etc.), le loup (*Canis lupus*), l'ours noir/brun (*Ursus americanus* - *Ursus arctos*), puma (*Puma concolor*), lynx roux (*Lynx rufus*), chiens viverrins (*Nyctereutes procyonoides*) ont pris part au cycle épidémiologique pérennisant ainsi la maladie dans certaines régions du globe ([Pozio & Murrell, 2006](#) ; [Pozio & Zarlenga, 2005](#)). Cependant, le cycle sylvatique est fonction de l'écologie de l'espèce hôte, lui-même sous dépendance de l'environnement où l'hôte se trouve ([FAO/WHO/OIE, 2007](#)).

2.3.2 Cycle domestique et facteurs de risque

Le porc est l'hôte par excellence de *T. spiralis* plaçant le cycle domestique à la base du cycle épidémiologique. En effet, nourrir les porcs via les eaux grasses et/ou résidus de la chasse, les laisser pâturer librement, en les exposant aux carcasses et aux rongeurs, sont d'autant de facteurs permettant à l'infection de se pérenniser ([Gamble et al., 2000](#)). ([Pozio & Murrell, 2006](#)). De bonnes pratiques d'élevage, de gestion des déchets et une cuisson adéquate de la viande avant consommation suffirait à endiguer ce cycle. Malheureusement, le manque d'éducation et des pratiques culturelles ancrées supplantent ce moyen de contrôle (partie 3.2 ; [FAO/WHO/OIE, 2007](#)).

2.3.3 Importance des rongeurs dans l'entretien du cycle

Les rats (*Rattus norvegicus*) sont fréquemment infectés par *T. spiralis* lorsque celui-ci circule parmi les animaux domestiques. Néanmoins, aucune infection chez les rongeurs n'a été mise en avant là où les porcs sont certifiés indemnes ou tout simplement absents de l'élevage (cf 2.3.1). La proximité des deux cycles est sans équivoque mais le rôle du rat fait encore débat quant à savoir s'il tient le rôle de réservoir (pérennisation/introduction) et/ou de vecteur (infection accidentelle) ([FAO/WHO/OIE, 2007](#)). Oivanen *et al.* (2002) ont montré que les larves au sein de carcasses de rats persistaient 2 semaines et ce quelque soit le type d'aliment. Ainsi, cela montre le rôle non négligeable des rats et des pratiques d'élevage.

3. La trichinellose chez l'homme

3.1 Pathologie et évolution de la maladie

Les symptômes sont initialement peu pathognomoniques et la période d'incubation est proportionnelle au nombre de larves ingérées qui déterminera à son tour la gravité de la maladie ([Schmitt et al., 1978](#)). Le tableau clinique dépend fortement du patient. En outre l'immunité, l'âge, le sexe et l'état général de celui-ci sont autant de facteurs de risques intervenant dans l'évolution de la maladie ([Kim, 1991](#); [Pawlowski, 1983](#)). Enfin, les symptômes varient selon la phase du cycle et donc du temps qui s'est écoulé depuis le repas infectant (Figure 8 ; [Capo & Despommier, 1996](#)).

Brièvement, la phase entérale est souvent asymptomatique avec tout au plus une légère diarrhée et des nausées suite à la pénétration des L1 dans la muqueuse intestinale. Cependant, en cas d'infection modérée à sévère, le patient peut présenter divers symptômes variant en intensité et s'étalant sur quelques jours (Figure 7, [Capo & Despommier, 1996](#)). Ces signes cliniques habituellement attribués à une intoxication alimentaire sont souvent source d'erreur dans l'établissement du diagnostic ([Murrell & Bruschi, 1994](#)). Deux à six semaines après l'infection, la phase entérale persiste mais les symptômes attribués à une maladie intestinale diminuent, moment où la phase migratoire est initiée. Lors d'infection bénigne, aucune pathologie n'est associée. Quand l'infection est modérée à sévère, l'occlusion des petits capillaires sanguins par les larves lors de leur migration est à l'origine d'atteinte nerveuse ou cardiaque pouvant aboutir dans de rare cas au décès du patient (Figure.7 ; [Capo & Despommier, 1996](#)).

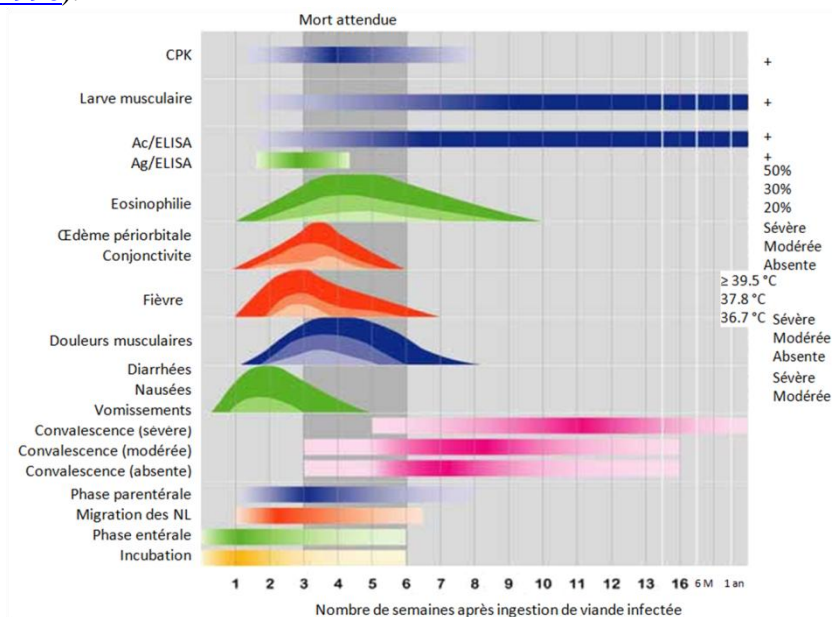


Figure 7 : Principaux signes cliniques, résultats de labo & diagnostic pour les patients souffrant d'une infection bénigne, modérée et sévère. Aspects qualitatifs (à gauche) & quantitatifs (à droite) de l'infection ; une couleur pour chaque stade de l'infection (ex : le vert = tous les symptômes de la phase entérale), éclaircissement de la couleur pour l'apparition/disparition progressive d'un symptôme ; ombrage vertical (sem. 3 à 6) pour la période d'infection où le décès du patient survient en général si l'ingestion de larves est assez massive pour être mortelle. Ac : anticorps, Ag : antigène ([Capo & Despommier, 1996](#))

3.2 Diagnostic, traitements et prévention

Un premier diagnostic est effectué sur la base des signes cliniques. En générale, la phase aiguë débute par l'apparition soudaine d'un malaise général, maux de tête sévères et une fièvre importante avant d'exprimer les symptômes énoncés figure 6 ([Capo & Despommier, 1996](#)). L'éosinophilie s'observe dans pratiquement tous les cas ([FAO/WHO/OIE, 2007](#)). Elle débute avant la phase clinique, augmente entre la 2-5^{ème} semaine puis redevient faible durant plusieurs semaines ([Capo & Despommier, 1996](#)). Le taux d'éosinophilie est corrélé à la gravité de la myalgie et significativement plus élevé en cas de complications ([FAO/WHO/OIE, 2007](#)). A cela s'ajoute une augmentation du taux des immunoglobulines (Ig) et particulièrement des IgE en réponse au parasite ([Watanabe et al., 2005](#)). Enfin, une augmentation des enzymes musculaires dans le sérum s'observe dans 75 à 90% des cas et de manière synchrone à l'éosinophilie ([Capo & Despommier, 1996](#)) mais sans lien aucun avec la myalgie ([FAO/WHO/OIE, 2007](#)).

Seuls trois articles sur l'étude comparative des antihelminthiques ont jusqu'alors été publiés ; les principaux étant le mébendazole (Vermox®R, Janssen) et l'albendazole (Zentel®,

GlaxoSmithKline) et le Pyrantel (Combantrin®, Pfizer) est destiné aux enfants et femmes enceintes. Le Thiabendazole, suite aux effets secondaires, n'est plus utilisé de même que le flubendazole. L'élimination des vers adultes par les anthelminthiques prévient la production des NBL, l'invasion du muscle par les larves et par conséquent la trichinellose. Ils devraient donc être administrés durant la phase d'invasion intestinale (<1 semaine PI). Malheureusement, ils sont généralement utilisés lorsque les symptômes spécifiques apparaissent soit en début de phase parentérale. N'ayant pas clairement établi combien de temps les femelles adultes survivent et produisent des NBL dans l'intestin de l'homme, il est recommandé d'employer des anthelminthiques au cours des quatre à six semaines suivant l'infection ([FAO/WHO/OIE, 2007](#)).

Enfin, pour prévenir la maladie, la consommation de viande crue étant ancrée dans les mœurs, il paraît difficile d'intervenir sur ce point ([Annexe 6](#)). Cependant, une inspection post-abattage par prélèvement de muscle (digestion, trichinoscopie)/ sérum (ELISA, IFA, Western Blot) ou post-« récolte » de la viande via la congélation, le séchage, la fumaison suffirait à endiguer cette maladie ([Gamble et al., 2000](#) ; [Gajadhar et al., 2009](#)). Malheureusement, les pays les plus touchés sont dépourvus de dispositifs de contrôle hors et au sein des abattoirs. De plus, les populations affectées consomment souvent, comme en Thaïlande, des animaux qu'ils chassent ou des porcs de backyards. L'éducation semble donc le dernier recours pour sensibiliser la population sur le risque encouru ([Kaewpitoon et al., 2006](#)).

3.3 Etat des lieux de la trichinellose en Asie du Sud-Est

T. spiralis étant cosmopolite, l'Asie du Sud-Est ne fait pas exception. Fréquemment des foyers sont recensés ([Barennes et al., 2008](#) ; [Kaewpitoon et al., 2006](#) ; [Pozio 2007](#), [Takahashi et al., 2000](#)) et le nombre d'infection chez les porcs domestiques et la faune sauvage n'a cessé d'augmenter ces dix dernières années ([Pozio, 2001](#)).

Au Laos, de nombreux patients sont suspectés de trichinellose mais faute de moyens seuls trois foyers de trichinellose ont été déclarés en 30 ans ([Barennes et al., 2008](#)) : en 1975 (50 cas, [Sicard et al., 1976](#)), en 2005 dans la province Borikhamxay (22 cas, [Sayasone et al., 2006](#)) et dans la province d'Udomxay (650 cas). L'épidémiologie de la maladie reste mal connue mais le porc et le rat semblent incriminés ([Barennes et al., 2008](#)).

Au Vietnam, seuls 3 foyers de trichinellose, tous au Nord du pays, ont été déclarés : en 1970 (n=26), 2001 (n=20+2 décès) dans la province de Yen Bai et en 2004 (n=20) dans la province de Dien Bien ([Doan et al., 2004](#)). Les données sur la prévalence font défauts ([Pozio, 2007](#)).

En Thaïlande, la situation épidémiologique est largement documentée. Le premier foyer a été rapporté en 1962 à Mae Hong Son (56 cas, 11 décès) ([Boonthanom & Nawarat, 1963](#)) et depuis tous les ans de nouveaux foyers sont déclarés surtout au Nord où de nombreux plats traditionnels sont à base de viande crue ou peu cuite ([Annexe 6](#)). Les principales sources d'infection sont le sanglier, le porc de « backyard » du Nord et ceux en provenance du Myanmar/Laos vendue en Thaïlande ([Kaewpitoon et al., 2006](#) ; [Takahashi, 2000](#)).

De 1962 à 2005, 7392 patients et 97 décès, pour la grande majorité en zones rurales ([Kaewpitoon et al., 2006](#)) et imputée à *T. spiralis* ([Boonthanom & Nawarat, 1963](#)), ont été enregistrés avec un pic en 1983 (557 cas). La région Nord est la plus affectée [Chiang Rai, Nan, Chiang Mai, Mae Hong Son, Payao] en comptabilisant 96,4% des cas reportés entre 1962-2000 ([Takahashi, 2000](#)) et 60,84% entre 1962-2005 suivit du NE (38,59%), l'Est, le Centre et le Sud (0,18% chacun) ([Kaewpitoon et al., 2006](#)). Les patients sont âgés de 1 à >65 ans mais la classe 35-44 ans est la plus affectée avec un taux de morbidité de 0.04%ooo. Enfin, les cas chez l'homme sont plus fréquents que chez la femme avec un ratio de 1,7-2 :1 ([Kaewpitoon et al., 2006](#)).

Partie II : Etude préliminaire de la trypanosomose chez les buffles en Thaïlande

Le buffle des rizières (*Bubalus bubalis*), indigène à la Thaïlande, est utilisé pour diverses tâches dans l'exploitation. Sa carrière se termine à l'abattoir vers l'âge de 14 ans. En outre sa force de travail, la production bufflonne n'est pas à négliger. Son lait riche en matière solide (18-23% contre 13-16% pour les bovins) et sa viande maigre et savoureuse font du buffle un excellent investissement. Source d'épargne, il assure une sécurité socio-économique aux ménages. C'est ainsi que les buffles furent surnommés par les thaïlandais « *Ai Tui* » signifiant « *royal travailleur honnête* » ([Faarungsang, 2003](#) ; [Indramangala 2002](#)).

Cet animal est généralement élevé au sein de petites unités agricoles de 1-3 buffles, en vue d'une production de subsistance. Les systèmes d'élevage varient d'une région ou même d'une ferme à l'autre en fonction de la zone de pâturage, du système de production, du mode de vie et du cadre économique des éleveurs.

La région Centre, où le sol est fertile et dépourvu de relief, présente une forte densité de population malgré le niveau élevé de mécanisation dans les rizières. Les buffles ne paissent pas sur des pâturages spécifiques et aucun complément alimentaire ne leur ait donné. Un système de pâturage au piquet ou plus traditionnel du « couper et à emporter » sont utilisés. L'animal, non intégré dans l'exploitation est uniquement une source d'épargne. Il sera vendu lorsque la famille aura besoin de liquidités.

La région Nord-est (NE) détient la plus forte densité de population de buffles (Figure 8, B&C). Par la pauvreté des sols, une moindre pluviométrie et un réseau d'irrigation limité, le buffle tient une place centrale dans l'exploitation si bien que l'agriculteur moyen en possède souvent 3. Les pratiques agricoles traditionnelles sont largement utilisées avec des pâturages pendant la journée complétés par de la paille de riz dans les enclos de nuit.

A contrario, le Sud est caractérisé par de grands troupeaux sauvages, souvent plus de 10 têtes appartenant à une seule et même famille ([Indramangala, 2002](#) ; [Annexe 6](#)).

Très important jusqu'au début des années 70, il est aujourd'hui menacé bien qu'un timide retour vers ces derniers s'observe par la flambée des prix du fertilisant entre autres. En effet, la population est passée de 5,5 -6,5 millions en 1971-1985, à 1,63 millions en 2005. Aujourd'hui, elle est estimée à 1,34 millions de têtes (Figure 8, A ; [DLD, Thaïland, 1984-2009](#) ; [Faarungsang, 2003](#)). Ceci s'explique pour plusieurs raisons : mécanisation de l'agriculture, diminution des aires agricoles allouées à la riziculture, empiètement des industries sur les zones rurales... ([Faarungsang, 2003](#) ; [Indramangala, 2002](#)). En 1979, sous l'initiative de sa majesté le roi Bhumipol, le projet « Banque de bovins et de buffles » a été créé et reconduit en 2002 sous l'appellation « Banque royale du buffle des rizières ». Ce projet repose sur le don d'animaux, destinés à l'abattoir, aux paysans nécessiteux qui lèguent à leur tour la descendance. Cette initiative, menée deux fois par an lors de la fête des Mères et des Pères, a déjà sauvé plus de 1 050 buffles de l'abattoir ([Indramangala, 2002](#)).

Le surra affecte particulièrement le buffle en Thaïlande avec une prévalence dans le NE de 16,6 % en 1981 et 20 % en 1984-1989 ([Löhr et al., 1985](#) ; [Kashemsant, 1989](#)). Depuis 1990, aucune enquête n'a été menée chez ces animaux. Pourtant les pertes économiques, même si sous estimées, sont considérables ([Dargantes et al., 2009](#)) particulièrement pour le NE au vue de la place que tiennent ces herbivores.. Cette étude vise à décrire la situation épidémiologique de la maladie, pré-requis nécessaire avant tout moyen d'action.

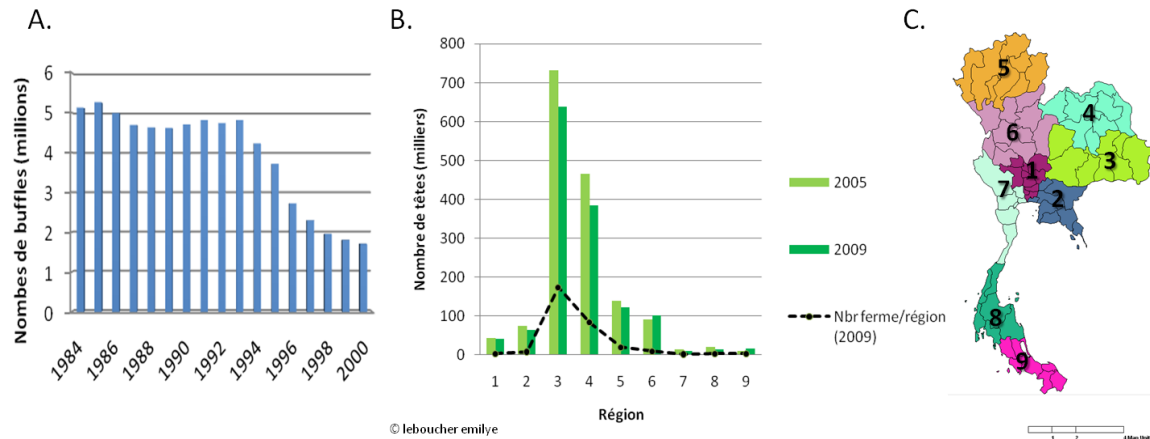


Figure 8 : Evolution et répartition de la population de buffles en Thaïlande. A : Depuis 1986, la population de buffles ne cesse de diminuer avec une aggravation de la situation à partir des années 90, la population passant de 3,5 à 2,5 millions en seulement une année (1995). B&C : 1,388 million en 2009 contre 1,625 millions en 2005 (d'après la [DLD](#)). La même tendance est observée sur l'ensemble des régions à l'exception de la 6 et 9 avec une augmentation de +12% et +16. Malgré le projet « Banque royale du Buffle » la tendance semble difficile à inverser.

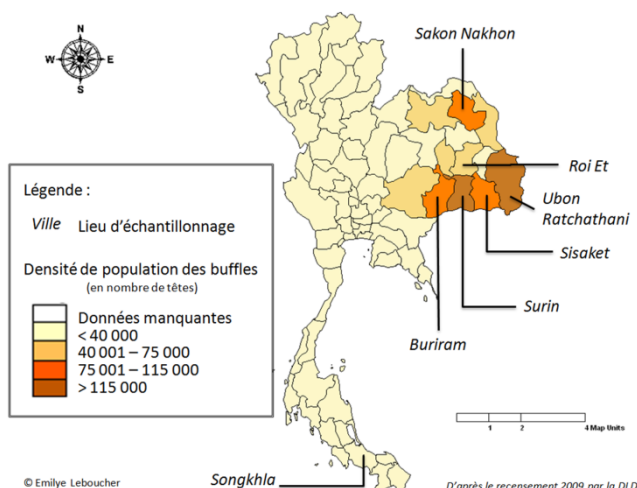
1. Matériel et méthodes

1.1. Matériel

1.1.1 Antigène pour l'ELISA

Pour conduire l'ELISA indirect, un antigène soluble à 6,8 mg/ml a été utilisé. Produit à Bangkok, il a été obtenu à partir de *T. evansi* cryopréservé isolé sur un cerf Rusa, *Cervus timorensis russa*, en 2001 à Ratchaburi, Thaïlande ([Desquesnes et al., 2009b](#)).

1.1.2 Populations étudiées



Au total, 792 échantillons de buffles ont été collectés sur la base du volontariat et en fonction de la commodité. Les éleveurs ont été préalablement avertis de l'échantillonnage par la DLD, qui sert d'intermédiaire. Les échantillons proviennent de 7 provinces, 6 dans la région NE [Buriram, Surin, Roi Et, Sisaket, Sakon Nakhon et Ubon Ratchathani] et la 7^{ème} dans la Région Sud [Songkhla]. Ces provinces regroupent 44% de la population totale de buffles soit environ 612000 milles têtes ([DLD, 1984-2009](#) ; Figure 9).

Figure 9 : Densité de population des buffles en Thaïlande et provenance des échantillons : La grande majorité des échantillons provient de province où les densités de population sont les plus fortes ([DLD, 2009](#)). Une partie des échantillons sont issus de Songkhla, Sud du pays présentant de grands troupeaux de buffles plus sauvages que leur congénères du NE.

Pour une prévalence (P) attendue de 10%, pareillement à celle des bovins laitiers dans le NE (9,3%) ([Desquesnes, 2009b](#)), il fallait échantillonner 100 buffles par province afin d'estimer

la séroprévalence avec un risque d'erreur (L) de 6% d'après la formule suivante ([Martin et al. 1988](#)) :

$$n = \frac{4PQ}{L^2} ; Q = 1 - P$$

1.2. Méthodes

1.2.1 Diagnostic direct

œ Prélèvements

Les prélèvements sanguins ont été effectués au niveau de la veine jugulaire à l'aide d'une aiguille montée sur une seringue de 10 ml. Le sang prélevé a ensuite été placé dans un tube EDTA pour le diagnostic parasitologique et moléculaire et un tube sec pour la collection de sérum. Pour ces derniers, le sang a été incubé à 4°C toute la nuit avant d'être centrifugé à 3000 t/min pendant 10 min à 15°C (Rotina 380®, Hettich™, Tuttlingen, Germany). Le sérum, le plasma et le *Buffy Coat* ont été récupérés, aliquotés et conservés à -20°C et -80°C.

œ Examen de sang à l'état frais

Une goutte de sang frais a été étalée sur une lame à l'aide d'une lamelle avant d'être observée au microscope optique (x40). L'échantillon a été considéré positif après observation de trypanosomes en mouvement ([OIE, 2005](#)).

œ Centrifugation hématocrite et PCV (Packed Cell Volume)

Un petit volume de sang (70µl) a été recueilli dans un tube capillaire hépariné (Hirschmann® Laborgeräte, Eberstadt, Germany) scellé par de la pâte à modeler à l'extrémité. Après centrifugation à 10 000 tr/min pendant 5 min (Heraeus Pico17 Centrifuge, Thermo Electron Corporation®, Ohio, U.S.A), trois couches ont été obtenues : culot érythrocytaire, couche leucocyto-plaquettaire et plasma. L'hématocrite, mesuré avec un Micro-capillary reader (cat. n°2201, IEC, Company, Tennessee, U.S.A), a ensuite été exprimé en pourcentage du culot d'hématies par rapport au volume de sang total (PCV). Ce même tube a été examiné par microscopie optique au niveau du *Buffy Coat* (x40), où les trypanosomes sont concentrés, après avoir été rincé à l'eau ([OIE, 2005](#) ; [Woo, 1971](#)).

1.2.2 Diagnostic sérologique

1.2.2.1 CATT/*T. evansi*®

Le test d'agglutination sur carte CATT/*T. evansi*® (Institute of Tropical Medicine « Prince Leopold », Laboratory of Serology, Nationalstraat 155, B-2000 Antwerp, Belgium) détecte les IgM spécifiques dirigés contre *T. evansi* par la fixation, via formaldéhyde, de trypanosomes colorés au bleu de Coomassie. Un échantillon, dilué au 1:4, a été considéré comme positif si une agglutination a été observée, comme recommandé par le fournisseur.

1.2.2.2 ELISA indirect

œ Réalisation de l'ELISA

Le protocole ELISA utilisé dérive de celui appliqué lors de l'enquête transversale préliminaire chez les bovins laitiers en Thaïlande ([Desquesnes et al, 2009b](#). ; [Annexe 2.1.A](#)).

❧ Sélection d'échantillons de références

Les échantillons de références ont été choisis parmi la population locale. Un seuil de positivité arbitraire et temporaire a été utilisé afin d'écarter les positifs des négatifs. Un groupe négatif, constitué d'échantillons ($DO < 150nm$) issus de fermes présumées indemnes et un groupe positif, regroupant les échantillons présentant une $DO > 300nm$, ont ainsi été constitués. La DO moyenne de ces échantillons négatifs (μ_n) a été calculée et trois contrôles (C_-), représentatifs de la population (faible, moyenne, forte réponse), ont été sélectionnés égale et bornant à $\pm 10\%$ la moyenne. La même méthode a été employée pour les positifs.

$$\begin{aligned} C_{1-} &= \mu_n ; C_{2-} = 0,9 \times \mu_n ; C_{3-} = 1,1 \times \mu_n \\ C_{1+} &= \mu_p ; C_{2+} = 0,9 \times \mu_p ; C_{3+} = 1,1 \times \mu_p \end{aligned}$$

L'ensemble des échantillons a été testé en double par ELISA avec les trois contrôles positifs (C_+) et les trois négatifs (C_-). La DO obtenue pour le blanc, bruit de fond de la plaque, a systématiquement été soustraite à la DO moyenne de chaque échantillon. Dans un souci d'harmonisation et pour accroître la reproductibilité, les résultats ont été exprimés en pourcentage de positivité relative (PPR) ([Desquesnes, 1997](#)) :

$$PPR_{\text{échantillon}} = \frac{\text{moy } DO_{\text{échantillon}} - \text{moy } DO_{C_-}}{\text{moy } DO_{C_+} - \text{moy } DO_{C_-}}$$

❧ Détermination du seuil de positivité

Après ces étapes, le seuil de positivité réel a été calculé à 3σ de la moyenne des PPR du groupe de négatifs constitué précédemment pour la sélection de C_- :

$$SP = \text{moyenne } PPR_n (\%) + 3\sigma (\%).$$

Un échantillon a été considéré positif quand son PPR était supérieur ou égale à la valeur seuil.

❧ Sensibilité (Se), spécificité (Sp), valeur prédictive positive-négative (VPP-VPN)

Ces indicateurs, pour l'ELISA, ont été calculés comme énoncé dans le tableau ci-dessous ([Toma et al., 1999](#)) :

Tableau 2 : Comment calculer la sensibilité (Se), la spécificité (Sp) et la valeur prédictive négative (VPN) et positive (VPP) d'un outil de diagnostic (ici l'ELISA) :

| | | Statut de l'animal | | |
|-------|---------|--------------------|----------------|-----------------|
| | | malade | sains | |
| ELISA | positif | a | c | VPP = $a/(a+c)$ |
| | négatif | b | d | VPN = $d/(b+d)$ |
| | | Se = $a/(a+b)$ | Sp = $d/(d+c)$ | |

❧ Analyses statistiques et expression des résultats

Les données recueillies ont été analysées à l'aide des logiciels Microsoft Office Excel 2007, R et EpiInfo (v. 3.4.3) puis cartographié à l'aide d'EpiMap (v. 3.4.3).

Le test de Student et du Khi², permettant de comparer respectivement deux moyennes et n distributions, ont été utilisés après avoir vérifié chacune des conditions de validité. Une différence significative était observée dès lors que la p-value < 0,05.

Les résultats, moyenne (μ) et pourcentage (P), ont été exprimés avec un intervalle de confiance (IC) de 95%, soit un risque d'erreur $\alpha = 5\%$, d'après Ancelle (2002) :

$$\mu = m \pm 1,96 \times \sigma_m \text{ avec } \sigma_m = \frac{\sigma}{\sqrt{n}} ; P = p \pm 1,96 \times \sigma_p \text{ avec } \sigma_p = \sqrt{\frac{p(1-p)}{n}}$$

1.2.3 Diagnostic moléculaire

Ce diagnostic a été mené afin de confirmer la présence du parasite, confronter les résultats obtenus respectivement par le CATT et l'ELISA et enfin estimer sa fiabilité.

Pour ce faire, l'ADN a été extrait par une méthode phénol-chloroforme inspiré du protocole de Sambrook et Russel (2001 ; Annexe 3). Une analyse PCR a ensuite été conduite avec la paire d'amorces TBR 1, 5'GAATATTAAACAATGCGCAG et TBR 2, 5'CCATTTATTAGCTTTGTTGC3' (Masiga *et al.*, 1992), afin d'amplifier une séquence satellite de l'ADN ribosomique extrait et détecter la présence de *T. evansi*. Les échantillons et 2 contrôles, eau distillée et ADN *T. evansi* issu d'une infection expérimentale chez bovin, ont été ensuite placés dans un thermocycler (MyCycler™ Thermal Cycler, Bio-Rad, California, U.S.A) pour l'amplification de la région cible (Annexe 4).

Les produits de la PCR ont été séparés par électrophorèse sur gel d'Agarose à 2% (Agarose D1 Low EEO, Pronadisa™, Conda, Madrid, Spain) en appliquant une tension de 120V (500 mA) pendant 1 heure. Le marquage de l'ADN a ensuite été réalisé (bromure d'éthidium) avant de photographier le gel sous éclairage UV ($\lambda=302\text{nm}$, DyNA Light™, Labnet, New Jersey, U.S.A) (Annexe 5).

2. Résultats

2.1. Résultats généraux

Les 697 échantillons du NE de la Thaïlande, répartis sur 295 fermes, ont été testés en l'ELISA. Sur l'ensemble des fermes, 246 ont été présumées indemnes et un groupe négatif de 526 échantillons (DO < 0,15 nm) a été constitué. Parallèlement, un groupe positif de 16 échantillons (DO > 0,3 nm) a été formé.

A partir de la moyenne des DO du groupe négatif et positif, respectivement $\mu_n=0,0601$ et $\mu_p=0,401$, trois contrôles négatifs et positifs présentant des valeurs proches de celles ci-dessous ont été sélectionnés :

$$\begin{array}{lll} \text{Contrôles négatifs : } C_{1-} = 0,054 & C_{2-} = 0,062 & C_{3-} = 0,066 \\ \text{Contrôles positifs : } C_{1+} = 0,361 & C_{2+} = 0,401 & C_{3+} = 0,442 \end{array}$$

Une fois les contrôles déterminés, tous les échantillons ont été testés en double en l'ELISA avec les 6 contrôles afin d'exprimer les résultats en PPR. Un seuil de positivité arbitraire et temporaire de 18%, déterminé lors de l'enquête chez les bovins laitiers (Desquesnes *et al.*, 2009b.), a été utilisé afin d'écarter les positifs des négatifs. En se basant sur la moyenne des PPR des échantillons dits négatifs (PPR < 18%, $\mu_n=0,25\%$), un seuil de positivité à 3σ de la

moyenne a été déterminé : $(-0,25\% + (3 * 6,62\%)) = 19,6\%$. Un échantillon fût considéré positif lorsqu'il affichait un PPR $\geq 19,6\%$ (Figure 10).

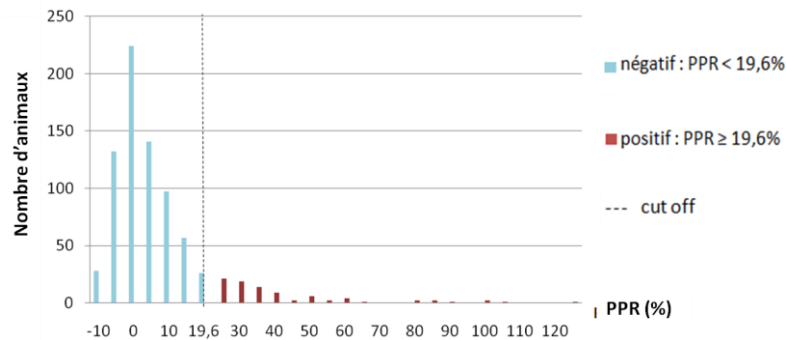


Figure 10 : Résultats de l'ELISA *T. evansi* pour les buffles : Après détermination d'un seuil de positivité à 19,6% de PPR, le statut de chacun des animaux a été déterminé ; ■ Echantillon négatif ; ■ Echantillons présumés positifs.

2.2. Résultats des divers diagnostics

⌘ Sérologie

Une majorité des séropositifs se distinguaient par une coloration intense à l'ELISA contre une absence de coloration pour les séronégatifs. Cependant, les échantillons aux abords du *cut-off* [séronégatif-positif] présentaient une faible intensité de coloration. Leur statut fût tranché par le choix du seuil de positivité. Sur les 792 échantillons (697 NE ; 95 Sud), la prévalence était de 8,59% (IC à 95% $\pm 2,0\%$) et de 10,98% (IC à 95% $\pm 2,2\%$) respectivement pour le CATT et l'ELISA soit 68 et 87 positifs. L'ELISA avec un seuil de 19,6% semble approprié.

⌘ PCR et fiabilité de l'ELISA

L'ADN de 44 échantillons séronégatifs (ELISA), répartis sur 7 fermes présumées indemnes de 2 à 14 têtes, et de 33 échantillons issus de 9 fermes infectées a été extrait.

Aucun des 44 échantillons séronégatifs testés ne s'est révélé positif par PCR, ce qui confirme la bonne valeur prédictive négative (VPN=98,3%) de l'ELISA (Tableau 3) contrairement au CATT (pas présenté ici) où 6,8 % d'entre eux (IC à 95% $\pm 7,4\%$ soit 3) furent positifs.

Pour les fermes infectées sur 8 animaux positifs par PCR ($P = 10,4\%$; IC à 95% $\pm 6,8\%$ soit 8/77), 62,5% (5/8) étaient positifs à l'ELISA ($PPR > 60\%$) et au CATT, 12,5% (1/8) uniquement à l'ELISA ($PPR = 26\%$) et 25% (2/8) négatifs aux deux tests ($PPR = 12$ et -3%). A noté que 57,8% (11/19) des séropositifs étaient négatifs par PCR.

La VPP de l'ELISA est donc moindre (35,3%) malgré une très forte sensibilité ($Se = 85,7\%$) et spécificité ($Sp = 84,3\%$; Tableau 3).

Tableau 3 : Sensibilité (Se), spécificité (Sp), valeur prédictive négative (VPN) et positive (VPP) de l'ELISA

| | | Malade (d'après PCR) | | |
|-------|---------|---------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|
| | | Oui | non | |
| ELISA | négatif | 1 | 59 | $VPN = \frac{59}{59 + 1} = 98,3\%$ |
| | positif | 6 | 11 | $VPP = \frac{6}{6 + 11} = 35,3\%$ |
| | | $Se = \frac{6}{6 + 1} = 85,7\%$ | $Sp = \frac{59}{59 + 11} = 84,3\%$ | |

∞ Anémie

L'information est manquante pour les échantillons de Sakon Nakhon, Ubon Ratchathani et Songkhla. Sur les 4 provinces restantes, l'hématocrite s'échelonnait de 19 à 54% avec une moyenne de 35,9% (IC à 95% \pm 2,6%).

En comparant l'hématocrite moyen des animaux séronégatifs de ceux séropositifs aucune différence significative n'a été observée (test Student : $t = -0,177$, $df = 35,48$, $p\text{-value} = 0,86$).

2.3. Classes d'âge

La population était relativement jeune. En effet, 65,6 % des individus étaient âgés de ou moins de 5 ans tandis que les animaux « en fin de carrière », de 14 ans et plus, ne représentaient que 3,3 % de la population.

Les animaux de moins de 2 ans étaient tous séronégatifs à l'exception d'un animal âgé d'un an et $\frac{1}{2}$. A l'échelle de l'échantillonnage, la séroprévalence augmentait au fil des classes d'âge allant de 3% (≤ 2 ans), 8% ($2 < x \leq 5$ ans) à 12% (> 5 ans) (Figure 9).

La distribution des individus séropositifs à travers les différentes classes d'âge était significativement différente ($\chi^2 = 63,2867$, $p\text{-value} = 0,0017$).

2.4. Sexe

Les deux sexes étaient représentés avec une forte prédominance des femelles soit 84,2 % contre 15,8% (115/727) de mâles dont la majorité âgés de moins de 5 ans : 2♂ et 74♀ ont été déclarés séropositifs soit une prévalence respective de 2 % et 12 % (IC à 95% 2,6% chacun).

2.5. Distribution géographique

Parmi les 792 échantillons testés répartis sur 302 fermes, 87 étaient séropositifs (10,98%, IC à 95% \pm 2,2%) et provenaient de 55 fermes (18,2%, IC à 95% \pm 4,4%). Les 223 animaux issus de ces fermes étaient donc potentiellement exposés à la maladie soit 28,2% (IC à 95% \pm 3,1%) de la population échantillonnée avec une prévalence de 39,0% (IC à 95% \pm 6,4%).

∞ Région

Six des 7 provinces font partie de la région NE. Sur les 697 échantillons, 65 furent séropositifs (9,3%, IC à 95% \pm 2,2%) et provenaient de 49 exploitations (16,5%, IC à 95% \pm 4,3%). Les 140 animaux de ces fermes étaient donc potentiellement exposés à la maladie soit 20,1% (IC à 95% \pm 3,0%) de la population pour une prévalence de 46,4% (IC à 95% \pm 8,3%).

∞ Province

L'ensemble des provinces présentait des traces sérologiques de l'infection. Les prévalences s'élevaient de 1,7% (IC \pm 3,3%) pour Sri Sa Ket à 23,0% (IC \pm 8,3%) à Songkhla. La prévalence des fermes (PF) et la prévalence moyenne des fermes infectées (mPFi) s'échelonnaient respectivement de 4,5% à 83,3% et de 28,2% à 79,7% (Tableau 4).

Tableau 4 : Résultats sérologiques (ELISA) chez les buffles à l'échelle de la province, Thaïlande

| Provinces | P prévalence province | PFI % de fermes infectées | mPFI moyenne dans les fermes infectées |
|---------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---|
| Buriram | 16/138 = 11,6% (IC \pm 5,3%) | 13/46 = 28,3% (IC \pm 13,0%) | 44,5% (IC \pm 15,8%) |
| Roi Ed | 10/81 = 12,3% (IC \pm 7,1%) | 7/41 = 17,1% (IC \pm 11,5%) | 59,4% (IC \pm 19,9%) |
| Sakon Nakhon | 27/181 = 12,9% (IC \pm 4,9%) | 18/100 = 18% (IC \pm 7,5%) | 79,7% (IC \pm 33,3%) |
| Sri Sa Ket | 1/59 = 1,7% (IC \pm 3,3%) | 1/22 = 4,5% (IC \pm 8,7%) | 100,0% (1 infectée) |
| Surin | 5/73 = 6,8% (IC \pm 5,7%) | 5/28 = 17,9% (IC \pm 14,2%) | 50,6% (IC \pm 26,6%) |
| Ubon Ratcha. | 6/138 = 4,3% (IC \pm 3,4%) | 6/59 = 10,2% (IC \pm 7,7%) | 47,2% (IC \pm 24,8%) |
| Songkhla | 19/95 = 23,0% (IC \pm 8,3%) | 5/6 = 83,3% (IC \pm 29,8%) | 28,2% (IC \pm 15,2%) |

Ferme

Les animaux étaient issus de ferme ayant entre 1 à 20 buffles. Les petites unités (1-3 animaux) étaient majoritaires (81,5% soit 246/302) tandis que les unités de 10 têtes ou plus ne concernaient que 2,6% (8/302) des fermes et se concentraient à Songkhla (5/8).

Sur les 302 exploitations, 55 présentaient des traces sérologiques de l'infection soit 18,2% d'entre elles (IC à 95% \pm 4,4%) avec une séroprévalence 5,0% à 100%. Parmi elles, 12 étaient composées d'un seul buffle, dont 8 issues de Sakon Nakhon, soit 21,8 % (IC à 95% \pm 10,9%) des fermes infectées. En ne tenant pas compte de celles-ci, la plus forte prévalence a été observée dans une ferme de 7 buffles à Sakon Nakhon (p=100%).

Les fermes infectées de 1 à 3 animaux présentaient un seul séropositif tandis que la situation était plus contrastée pour les grandes exploitations (>5 buffles). En effet, certaines ne présentaient qu'un animal séropositif pendant que d'autres avaient l'ensemble du cheptel infecté. Pour la moyenne des prévalences des fermes infectées, une fois encore Sakon Nakhon présentait la plus forte prévalence (79,7% ; IC \pm 33,3%, Tableau 4). Enfin, les exploitations en présence et absence de l'infection étaient distribuées sur l'ensemble des points de collecte.

3. Discussion

Depuis 2007, un projet sur *T. evansi* en Asie du Sud-Est a vu le jour à travers la collaboration du CIRAD, UMR Trypanosome (Montpellier, France) représenté par le Dr. Marc Desquesnes et la Faculté de Médecine Vétérinaire de l'Université de Kasetsart (Bangkok, Thaïlande). Ce projet a pour ambition d'accroître les connaissances sur ce parasite tant du point de vue épidémiologique, sanitaire qu'économique. Cette présente étude fait suite à l'enquête rétrospective sur les bovins laitiers en Thaïlande ([Desquesnes et al., 2009b](#)).

L'ELISA est l'outil couramment utilisé en épidémiologie et employé depuis longtemps lors de trypanosomose car à la fois peu coûteux, rapide et aussi spécifique que sensible ([OIE, 2005](#)). De plus l'ELISA, avec le CATT, est approprié pour détecter les buffles infectés ([Dargantes et al., 1999](#) ; [Davison et al., 1999&2000](#) ; [Verloo et al., 2000](#)). Enfin, l'ELISA/*T. evansi* employé ici a d'ors et déjà été utilisé ; certes chez les bovins laitiers mais les résultats furent plus qu'acceptables ([Desquesnes et al., 2009b](#)). Dans ce contexte, l'enquête sérologique a été optée et ainsi décrire au mieux la situation épidémiologique actuelle.

A partir des groupes négatifs constitués, un seuil de positivité à 3σ de la moyenne a été défini. En effet, à 2σ le gain en sensibilité était moindre en comparaison de la perte en spécificité. Ce

seuil de même que les résultats obtenus ont été exprimés en pourcentage de positivité relative (PPR) pour limiter les variations journalières ([Desquesnes, 1997](#)).

D'après les résultats l'ELISA, avec un seuil de 19,6%, était à la fois très sensible ($Se = 85,7\%$) et très spécifique ($Sp = 84,3\%$). Néanmoins, malgré une bonne VPN (98,3%), cet outil présentait une moindre VPP (35,3%). Ceci peut s'expliquer de plusieurs façons : une récente infection, la séroconversion n'étant pas immédiate, une parasitémie basse et fluctuante surtout chez les buffles où l'infection est souvent chronique ([Gill, 1977](#) ; [OIE, 2005](#)), une ancienne infection, les anticorps circulants 4-5 mois après élimination du parasite ([Desquesnes et al., 2009b.](#)), voire même une infection concomitante, à l'origine de réactions croisées ([Verloo et al., 2000](#)). Ceci étaye les propos d'autres auteurs : la PCR s'avère très sensible là où les outils sérologiques font défaut ([Holland et al., 2001a.](#) ; [Masiga et al., 1992](#)) d'où l'intérêt d'utiliser conjointement les outils usuels de diagnostic. Quoiqu'il en soit, l'ELISA permet de connaître la situation épidémiologique même si celle-ci n'est pas exhaustive et présente un biais ($VPP < 50\%$). Ainsi, pour certaines fermes la prévalence par ELISA et PCR étaient relativement proches, traduisant une circulation active du parasite, tandis que pour d'autres celle par PCR était nulle ou très faible en comparaison de l'ELISA, signant une présence passée du parasite ou un état sub-clinique/chronique de l'infection.

L'anémie ne s'avéra pas être un indicateur de la présence du parasite, aucune différence significative ne fût observée entre séropositifs-négatifs. Ceci va à l'encontre de ce qui a été observé jusqu'alors. En effet, [Hilali et al. \(2006\)](#) ont mis en avant des changements hématologiques important avec, entre autres, une chute de l'hématocrite (PCV). En conditions expérimentales, les animaux sont exposés à une forte parasitémie d'où un impact pathologique parfois exacerbé. Cependant, des résultats similaires et contradictoires furent obtenus respectivement chez des buffles naturellement infectés ([Sangwan et al., 1993](#)) et infectés expérimentalement ([Pholpark, et al. 1999](#)). L'anémie à travers la PCV n'est donc pas fiable pour discriminer statut sain-statut infecté chez le buffle.

L'échantillonnage a été conduit dans la région NE et Sud à travers 7 provinces où le nombre fixé fût atteint (100 échantillons) à l'exception de Surin (73) Sri Sa Ket (59) et Roi Et (81) où la significativité des résultats fût donc moindre ([Ancelle, 2002](#)). L'analyse des résultats n'a donc pas été au-delà de la province. Néanmoins, en dépit d'un échantillonnage limité, le parasite fût détecté à travers tout les points de collecte confirmant les propos d'autres auteurs ([Desquesnes et al., 2009b.](#) ; [Kashemsant et al., 1989](#)). C'est pourquoi, d'autres enquêtes seraient nécessaires pour une estimation plus précise de la situation en intégrant les différentes échelles spatiales (districts/sub-districts). En effet, [Desquesnes et al. \(2009b.\)](#) ont montré que l'hétérogénéité augmentait avec l'échelle géographique considérée : de la région à la province, au district et à la ferme confirmant ainsi la variété des situations épidémiologiques présentent sur le terrain. Enfin, les échantillons ont été récoltés en une seule fois sur un pas de temps très court, les effets saisonniers au sein de chaque localité n'ont donc pu être abordés.

La mise en évidence de réaction immunitaire à l'encontre de *T. evansi* ainsi que sa présence avérée par PCR marque une circulation active de ce parasite chez les buffles. L'occurrence de l'infection (10,98%, IC à 95% $\pm 2,2\%$) est proche de celle obtenue pour les bovins laitiers ([Desquesnes et al., 2009b.](#)) mais très loin des 38,6% (IFAT) obtenu par [Nishikawa et al. \(1990\)](#) en 1988. De même pour le NE, où une prévalence de 9,3% (ELISA) fût observée ici contre 16,6% (CFT) en 1981 ([Löhr et al., 1985](#)) et 20% (parasitologie) en 1984-1989 ([Kashemsant et al., 1989](#)). Il semblerait, à la simple vue de ces résultats, que le surra reculerait en Thaïlande. Pourtant, ces divergences peuvent s'expliquer par les techniques employées pour l'échantillonnage et le diagnostic. En effet, chaque outil présente une sensibilité et une spécificité variable directement lié à la cible ([Dia et al. 1997b.](#) ; [Holland et al., 2001a.](#) ; [Verloo et al., 2000](#)). Ensuite, l'échantillonnage influe considérablement sur les résultats.

D'une part, la période où celui-ci a lieu n'est pas à négliger sachant que la prévalence en saison des pluies/hivernale est plus élevée que le reste de l'année ([Kashemsant et al., 1989](#)). Enfin, un nombre limité d'échantillons, aux vues de l'aire géographique ou du pas de temps considéré, se répercute par une moindre précision de l'estimation ([Ancelle, 2002](#)).

Des traces avérées de l'infection ont été retrouvées sur l'ensemble des 7 provinces. La plus forte prévalence fût observée à Songkhla et la plus faible à Sri Sa Ket. Il est difficile d'affirmer la cause d'une telle différence mais il est très probable que le taux de transmission soit un facteur déterminant. Ce taux dépend d'une part de la capacité des tabanides à transmettre le parasite et d'autres part des facteurs abiotiques : humidité, pluviométrie température ([Foil et Hogsette, 1994](#), [Luckins, 1988](#)). Ici, Songkhla, qui détient la plus forte pluviométrie (2500 mm/an), tend à avoir une prévalence plus élevée que les zones présentant une faible pluviométrie comme Sri Sa Ket (1200 mm/an) ([FAO, 2005](#)). Néanmoins, l'écologie de ces vecteurs mécaniques en Asie du Sud –Est est très peu documentée ([Luckins, 1988](#)) même si leur abondance en saison des pluies et leur diversité en espèce est avérée ([Indrakamhang, 1998](#)). Dans ce contexte, seule l'hypothèse d'une possible relation entre taux d'infection et activité de ces diptères hématophages peut être émise, comme pour les buffles d'Indonésie ([Payne et al., 1991](#)). A l'échelle de la ferme, le parasite était largement distribué à Songkha (4FI/6) contrairement à Sri Sa Ket où l'infection se limitait à 1 ferme. Plus de 90% des exploitations infectées du NE présentaient qu'un seul animal infecté. A titre exemple à Surin et Ubon Ratchathani, les 5 et 6 séropositifs se répartissaient sur 5 et 6 fermes. A l'opposé, les exploitations infectées de Songkhla présentaient 3 à 8 animaux séropositifs. Or, [Nishikawa et al. \(1990\)](#) observa une plus forte prévalence au NE même si l'occurrence de la maladie était semblable (28,7% contre 33,3%). Ici, la comparaison entre NE et Sud est à pondérer. Une seule province pour le Sud a pu être échantillonnée pendant cette étude. Enfin, Songkhla province du Sud se caractérise par de grands troupeaux (>10têtes) où les animaux, beaucoup plus sauvages, divaguent. Ceci favorise considérablement le contact entre animaux et la propagation du parasite d'un élevage à un autre ([Annexe 6.D&E](#)). A l'opposé, le NE se caractérise par de petites unités de 1-3 animaux attachés aux abords des exploitations/routes, où ils sont à la merci des piqûres incessantes des insectes, durant la saison des pluies tandis qu'en saison sèche ils divaguent et se réfugie aux rares points d'eaux, maximisant aussi le contact entre animaux ([Simarak et al., 2005](#) ; [Annexe 6.A-C](#)). En plus, des conditions climatiques, les systèmes et les pratiques d'élevage sembleraient jouer un rôle non négligeable en maximisant les contacts entre les animaux sauvages/domestiques, animaux sains/porteurs/malades et les insectes piqueurs ([Antoine-Moussiaux et Desmecht, 2008](#), [Dia et al., 1997b.](#)). Ces observations étayent les conclusions faites chez d'autres espèces comme les camélidés en Afrique ([Dia et al., 1997a.](#) & [1997b.](#) ; [Elamin et al., 1998](#) ; [Ngaira et al., 2002](#)). Chaque foyer, sous dépendance de l'aire géographique où il se trouve, semblerait être la conséquence du système épidémiologique [condition climatique + vecteur + hôte + élevage] Cependant, il y a toujours des exceptions comme le montre deux exploitations. Le premier exemple concerne une ferme de 7 buffles tous séropositifs (60<PPR<125%) à Sakon Nakhon. La circulation active du parasite reflète une situation épizootique. Les animaux porteurs ont basculé d'une infection asymptomatique à clinique en réponse à une infection intercurrente et/ou un stress environnementale ([Luckins, 1988](#)). La deuxième ferme, à Buriram, présentait un seul séropositif sur son troupeau de 12 têtes. L'introduction d'un animal nouvellement acheté voir importé est l'explication la plus plausible. La population bufflonne s'effondrant, il n'est pas rare que la Thaïlande importe du bétail en provenance des pays frontaliers à savoir le Myanmar, le Cambodge et le Laos, où le surra est présent ([Luckins, 1988](#) ; [Ozawa, 1998](#)). En effet, de 1980 à 2002 l'importation de bovins est passée de 18 000 à 187 000 animaux ([FAO, 2005](#)). Or, les contrôles sanitaires faisant cruellement défaut il est monnaie courante d'importer des animaux porteurs du parasite ([Ozawa, 1998](#)).

Pour finir, cette enquête montra une augmentation de la prévalence au fil des classes d'âge et l'absence de trace sérologique de l'infection chez les animaux de moins de 2 ans. Il semblerait que les buffles resteraient infectés plusieurs années, avec possibilité de multiple réinfections ([Davison et al., 2000](#)), tandis que les juvéniles seraient épargnés. Une moindre exposition aux insectes piqueurs, par « un rôle écran » des adultes, pourrait être une explication. L'âge apparaît donc comme facteur de risque chez les buffles en Thaïlande comme se fût le cas aux Philippines et en Indonésie ([Dargantes et al., 2009](#); [Davison et al., 2000](#); [Payne et al., 1991](#)). Concernant le sexe, avec l'échantillonnage et les résultats il est difficile d'affirmer l'implication de ce paramètre même si le risque ne tiendrait non pas de ce facteur mais plutôt des conditions d'élevage ([Dargantes et al., 2009](#)).

4. Conclusion

En définitive, systèmes et pratiques d'élevages, associés à un contexte géographique, semblent avoir un impact sur la circulation du parasite notamment à travers les mouvements d'animaux. En effet, en partie contrôlés ils sont à l'origine de cas sporadique et de la dissémination de l'infection. L'aire géographique n'est pas à négliger, même si des interrogations subsistent sur l'écologie des insectes hématophages. Mais aux vues du nombre d'animaux exposés et des conséquences économiques qui en découlent ([Dobson et al., 2009](#)), une étude longitudinale de grande ampleur s'impose, les outils de diagnostic étant déjà disponibles. Ceci permettra d'avoir une connaissance approfondie de la situation épidémiologique, pré-requis indispensable pour la mise en place de campagnes sanitaires.

Enfin, outre son importance directe, il convient de rappeler l'impact potentiel du surra dans le déclenchement de foyers et/ou dans la perturbation des campagnes vaccinales contre la septicémie hémorragique et la fièvre aphteuse chez le buffle et des autres bovins. L'importante dissémination géographique du parasite constitue un risque ubiquiste de rupture d'immunité et donc une entrave déterminante au succès des coûteuses campagnes de lutte (éradication ?) vaccinales mises en place par la FAO.

Partie III : Etude sérologique de la trypanosomose à *T. evansi* et de la trichinellose à *T. spiralis* chez le porc

Au cours de la dernière décennie la filière porcine en Thaïlande, avec ses 8,54 millions de têtes en 2009, a connu un revirement total en passant d'une production traditionnelle de type *backyard*, basé sur les sous produits agricoles et les eaux grasses, à une production industrielle fortement dépendante des intrants zootechniques que sont la nourriture industrielle et les équipements ([Simarak et al., 2005](#)). Ceci c'est traduit par un remaniement de la distribution du cheptel avec une densité de population passant de >50% à 30% et de 10 à 37% respectivement pour la Région Centre et Sud pour la période 2000-2009 (Figure 11, B.). Les *backyards* continuent d'exister dans les zones rurales au Nord et Nord-Est du pays notamment à Mae Hong Son ou Chiang Mai ([DLD, 1984-2009](#)). En effet, ces régions comptabilisent chacune une dizaine de milliers de fermes alors qu'elles ne possèdent que ¼ du cheptel porcin du pays (Figure 11, B.).

Economiquement parlant, la filière porcine thaïlandaise a connu un essor tant du point de vue de la production (Figure 11, A.) que de la consommation. Aujourd'hui, cette croissance est freinée par l'augmentation du prix des intrants et surtout de la peste porcine (PPC) qui sévit toujours en Thaïlande. La production est destinée au marché local même si l'exportation tend à se développer passant de 0,02% de la production en 1980 à 2,49% en 2002 ([FAO, 2005](#)).

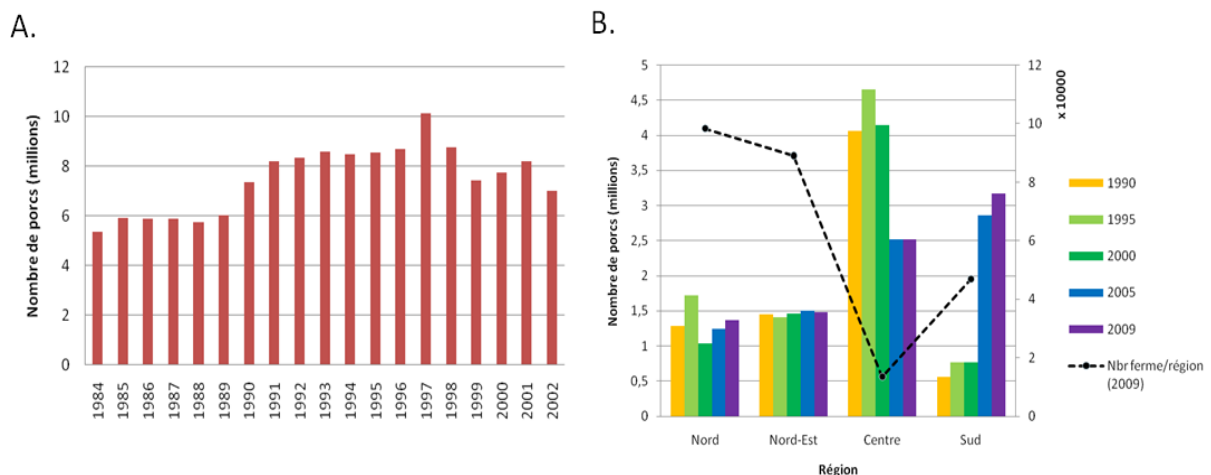


Figure 11 : Evolution et répartition du cheptel porcin en Thaïlande. A. Essor dans les années 90 avant de se stabiliser à 8 millions de têtes ; B. De 1990 à 2009, la répartition des porcs sur le territoire n'a pas évolué au nord et nord-est du pays mais a chuté au centre au profit du sud. Le nord est caractérisé par de l'élevage plus traditionnel tandis qu'au Centre l'élevage industrielle est majoritaire d'où un nombre limité de ferme au vue du cheptel porcin.

La filière vietnamienne compte 21,9 millions de porcs avec une densité moyenne de 67 têtes/km². En comparaison avec ces 400 têtes/km², le Delta du Fleuve Rouge est donc incontestablement le cœur de la filière. A la fin du 20^{ème} siècle, l'élevage porcin s'est privatisé progressivement et permit au pays de doubler sa production annuelle en passant de 2,1% en 1980-1990 à 5,1% en 1990-2000 (4^{ème} rang mondial). L'offre augmentant, la consommation de viande de porc a été multipliée par 4 et les exportations ont connus un envol en passant de 342 tonnes en 1980 à 74 000 en 2000.

La filière est dominée par un système de production d'arrière-cour formée par un troupeau n'excédant pas 10 porcs. Les petites (5-10 truies), moyennes (20-500 truies) et grandes exploitations (>500 truies) ne constituent que 10%, 5,5% et 4,5% du cheptel porcin ([ILRI, 2009](#)).

Chapitre 1 : Infection expérimentale par *Trypanosoma evansi* chez le porcelet

Le surra chez les porcs est très peu documenté à l'exception de quelques études de cas ([Holland et al., 2003&2005](#) ; [Teeraprasert, et al., 1985](#)) même si quelques foyers ont été reportés ([Arunasalam et al., 1995](#) ; [Teeraprasert et al., 1984](#) ; [Thepsumethanone et al., 1984](#)). Ceci s'explique en partie par une infection bien souvent asymptomatique sinon peu pathognomonique ([Gill, 1977](#)). Différents outils de diagnostic sont disponibles et applicables au porc avec les outils usuels en parasitologie, la sérologie, même si l'efficacité du CATT est aujourd'hui remise en question ([Holland et al., 2005](#)) et enfin la PCR ([Thekisoe et al., 2005](#)). Dans ce contexte, cette infection expérimentale a pour ambition d'une part de générer de bons contrôles et conduire à bien l'ELISA/*T.evansi*. D'autre part, ceci permettra d'entrevoir la fiabilité des outils usuels de diagnostic, et plus particulièrement du CATT, et de mettre en avant les manifestations cliniques de la maladie, s'il y a, chez les porcelets.

1. Matériel et méthodes

Quatre porcelets ont été achetés dans une ferme indépendante de taille moyenne élevant les trois races communément utilisées en Thaïlande : Duroc, Landrace et Large white. Cette exploitation est localisée à Bon Huai Krabok, Tamaka dans la province de Kanchanaburi. Ces quatre femelles d'environ huit kg, âgées de 1 mois et 3 jours et sevrées au moment de l'achat, sont issues de la même portée qui comptait 10 porcelets au total (Figure 13, A.).

Le vétérinaire en charge de cet élevage, Dr. Tamaka, fût garant de leur état de santé. Les vaccins contre la variole, la maladie d'Aujeszki (vaccin atténué Novoyeski®) et la PPC (vaccin atténué Pest-Vac®) ont été administrés avant, pour le premier, et après l'achat des animaux.

Ces animaux ont été contrôlés en parasitologie et sérologie quelques semaines avant le début de l'expérience afin d'affirmer leur naïveté face à *T.evansi*. Deux porcelets (P2-P4) ont été infectés par un isolat de *T. evansi* préservé dans de l'azote liquide et réactivé préalablement chez la souris. L'inoculation ($1,32.10^3$ tryps/ μ l après comptage) a été effectuée par voie intramusculaire pour un volume de 400 et 300 μ l, soit $5,27$ et $3,95.10^5$ trypanosomes, respectivement pour P2 et P4. Deux non infectés (P1-P3) ont servi de témoins pour toute la durée de l'expérience. Les animaux ont été répartis sur deux cages. Un dispositif *fly proof* et *rodent proof* a été mis en place pour le groupe infecté afin de bloquer toute transmission du parasite (Figure 12 C&D). La cage témoin n'a reçu aucune attention particulière (Figure 12 B.).



Figure 12 : Dispositif pour l'infection expérimentale chez le porcelet de *T. evansi* A. Porcelets à l'exploitation ; B. Groupe témoin() ; C. Dispositif « fly proof » (double protection) et « rodent proof »(). D. Groupe infecté ().



Un suivi journalier des signes cliniques et des prélèvements sanguins, à raison de 1 à 2/semaine, ont été effectués et ce durant toute la durée de l'expérience soit 5 semaines.

Les prélèvements ont été faits au niveau de la veine jugulaire à l'aide d'une aiguille de 22G 1,5 montée sur une seringue (Figure 13).

Le sang a été placé dans un tube EDTA et tube sec en vue d'effectuer diagnostic parasitologique, sérologique et moléculaire (cf partie II,1.2).

Figure 13 : Prélèvement sanguin au niveau de la veine jugulaire du porcelet

2. Résultats

2.1. Signes cliniques

Cette étude n'ayant porté que sur seulement 4 porcelets seule une approche descriptive a pu être effectuée. Aucune différence n'a été observée pour le poids (Figure 14B), qui augmentait progressivement², l'anémie (Figure 14C), et la température. Néanmoins pour ce dernier paramètre deux tendances s'observaient avec des fluctuations plus prononcées chez les porcelets infectés P2 et P4 (Figure 14 A). Aucun signe clinique probant n'a été observé au cours de l'expérience mise à part une certaine atonie sporadique pour P2.

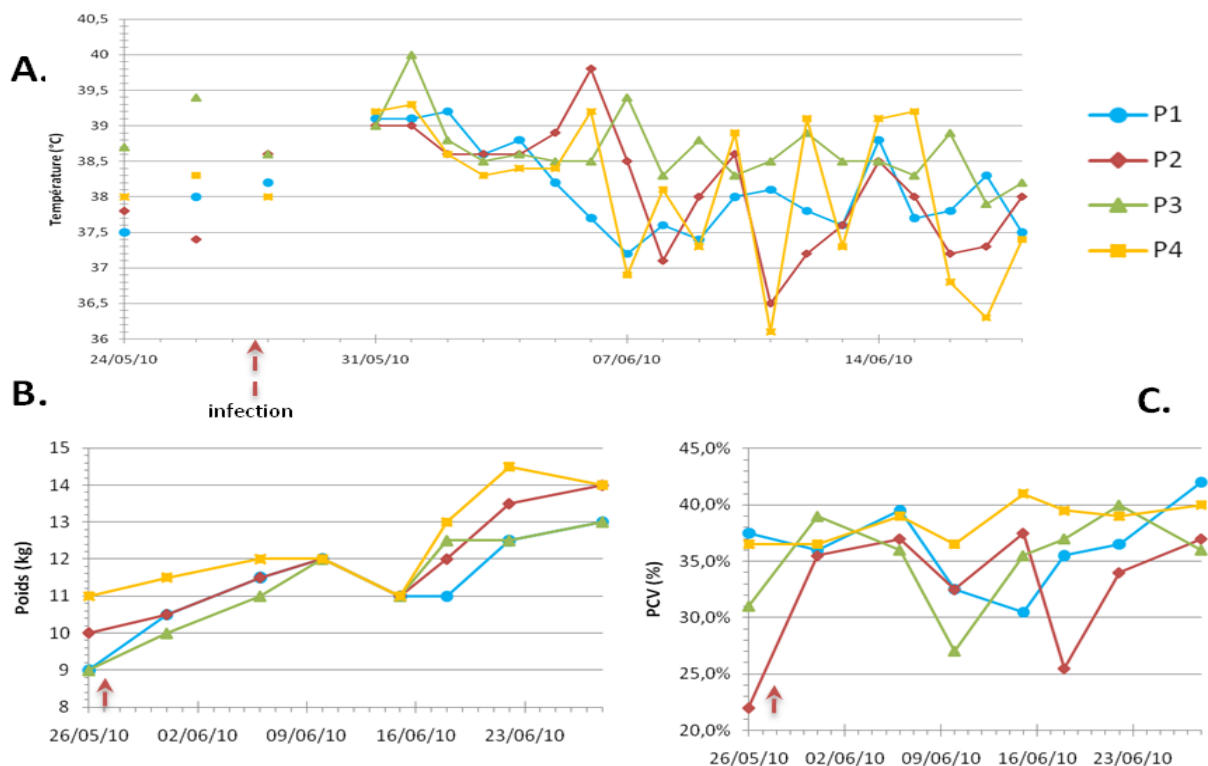


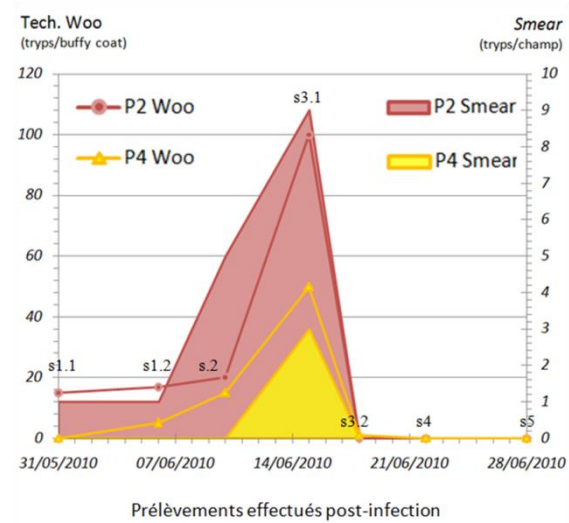
Figure 14 : Suivis cliniques des porcelets (*T. evansi*) : A. Courbe des températures (°C) avant et après infection (28/05/2010) ; B. Evolution du poids (kg) et C. Variation de l'hématocrite (%) avant et pendant l'infection.

² A noté le 15/06 une chute du poids et ce pour les 4 animaux suite à un dérèglement de la balance.

2.2. Parasitologie

Pendant toute la durée de l'expérience, les témoins se sont révélés négatifs en parasitologie. L'évolution de la parasitémie au cours de l'expérience est similaire entre P2 et P4 avec un pic (15/06), moins marqué pour P4 en comparaison à P2, respectivement de 50 et >100 tryps/Buffy Coat et de 3 et 9 tryps/lame. Le Woo détecta rapidement la présence du parasite (2^{ème} prélèvement, 10j PI) en comparaison du *smear* (18j PI) pour P4 (Figure 15).

Figure 15 : Evolution de la parasitémie au cours de l'infection chez P2 et P4. Sx.xx : prélèvement xx, semaine X PI.



2.3. Sérologie

2.3.1 CATT

Les 4 porcelets ont été contrôlés négatifs au CATT avant l'infection. Après infection les 4 animaux ont été testés négatifs malgré la prolifération des parasites chez P2 et P4. La sensibilité du CATT a donc été nulle tout au long de cette expérience.

2.3.2 ELISA

Les DO du groupe témoin (P1, P3) sont restées globalement constantes (<0.08 nm) durant toute la durée de l'expérience. A contrario, celles du groupe infecté (P2, P4) ont rapidement augmenté, allant de 0.085 à 0.68 nm avec un pic à la 3^{ème} sem PI (22/06) (Figure 16).

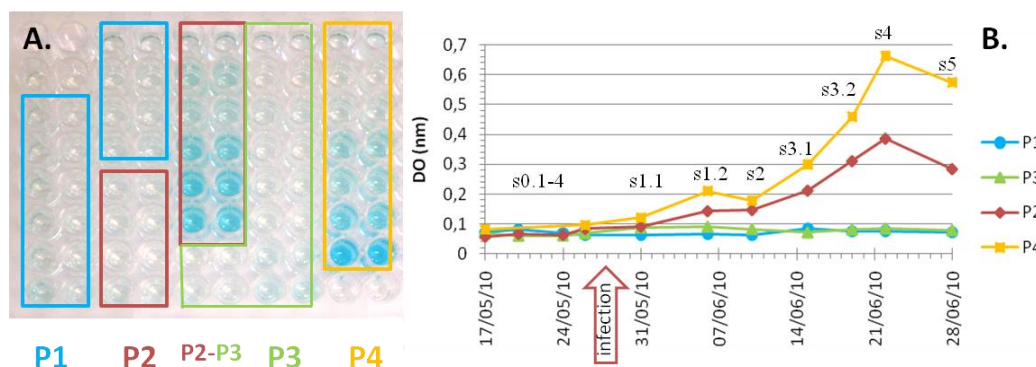


Figure 16 : Evolution de la DO des 4 porcelets au cours de l'expérience : P1-P3 témoins - P2-P4 infectés ; s0.1-4 :prélèvement 1 à 4 avant infection ; s1-5.xx prélèvement xx semaine 1 à 5 PI. A&B. Evolution graduelle de l'absorbance (B.) et donc de la colorimétrie (A.) pour le groupe infecté contrairement aux témoins restant stable en terme de DO (B.) et une coloration quasi inexistante (A.).

2.4. PCR

Aucun des prélèvements effectués sur les témoins P1-P3, et sur P2-P4 avant leur infection, n'a provoqué de signaux sur le gel. L'ADN de *T. evansi* n'est donc pas présent. Cela confirme les propos avancés plus haut concernant la naïveté des porcelets. La majorité des prélèvements effectués sur P2&P4 lors de l'infection ont provoqué des signaux après

migration des produits de l'amplification. Ceci marque donc la présence de *T. evansi* chez ces porcelets. Néanmoins, les échantillons de la sem. 3 (P2&P4), et de la sem.1 (P4) n'ont pas généré de signaux sur le gel (Figure 18). Pourtant, l'échantillon 1.s3 (P2) se trouvait être dans le pic de parasitémie et le 2.s3 (P4) présentait une faible parasitémie (Woo, 1tryps/buffy coat) tandis que les échantillons des s4-5, négatifs en parasitologie, furent positifs ici. (Figure 17).

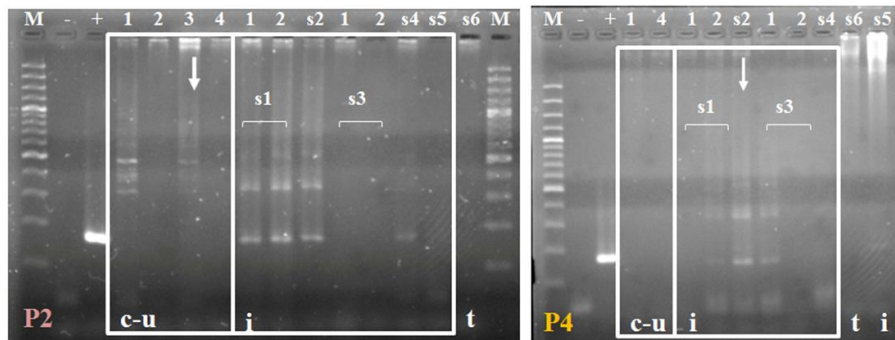


Figure 17 : Gel d'électrophorèse des produits de la PCR obtenus avec les amorces TBR à partir d'échantillons des porcelets infectés (P2 & P4). M : Marqueur 100pb plus (Fermentas) ; - : contrôle négatif ; + : contrôle positif ; Check up : suivi (2sem) avant infection ; s X : prélèvements effectués lors de la XX^{ème} sem PI ; c-u : check-up ; i : infecté ; t : traité.

3. Discussions

L'infection chez le porc est souvent sub-clinique si bien qu'elle passe inaperçue. En outre, le tableau clinique chez cet hôte est peu documenté ce qui complique le diagnostic. En effet, seules de rares infections expérimentales et un nombre limité d'enquêtes ont jusqu'alors été conduites ([Dargantes, 2006](#) ; [Holland et al., 2003](#) ; [Teeraprasert et al., 1984](#) ; [Teeraprasert et al., 1985](#) ; [Thepsumethanone et al., 1984](#), [Tuntasuvan et al., 2003](#)). L'objectif principal ici a été d'évaluer les outils usuels de diagnostic et de constituer une banque d'échantillons de références. De surcroît, aucune infection n'a jusqu'à présent été menée chez le porcelet.

Les animaux étaient susceptibles d'être infectés ou de présenter des anticorps maternels. Un suivi a donc été mené avant le début de l'expérience et révéla leur naïveté à l'infection. L'infection n'engendra aucun des principaux signes cliniques à l'exception d'accès de faiblesse pour P2. En effet, aucune différence n'a été observée pour le poids et l'hématocrite entre les 2 groupes. Cela rejoint les observations faites par d'autres auteurs ([Dargantes et al., 2006](#) ; [Holland et al., 2003](#), [Holland et al., 2005](#), [Tuntasuvan et al., 2003](#)) confirmant ainsi la pathologie limitée chez cet hôte, au moins chez le porcelet. La température fluctua tout au long de l'expérience et pour les 4 porcelets, sûrement en raison du stress, même si P2 et P4 présentaient une plus forte amplitude. LA fièvre intermittente, symptôme récurrent à toutes les infections expérimentales ([Dargantes, 2006](#) ; [Teeraprasert et al., 1985](#), [Tuntasuvan et al., 2003](#)) et naturelles ([Arunasalam et al., 1985](#) ; [Teeraprasert et al., 1985](#) ; [Thepsumethanone et al., 1984](#)) n'a cependant pas été mise en avant ici. Ces mêmes études ont mis en avant d'autres signes cliniques mais peu communs comme des troubles nerveux et respiratoires, des avortements, des lésions internes, etc. Les décès sont rares et font suite, dans la majorité des cas, à un avortement.

L'absence de signes cliniques peut s'expliquer dans la mesure où le suivi s'est limité à 5 semaines. D'après [Dargantes et al. \(2006\)](#) la période prépatente peut atteindre 41j si bien que les symptômes auraient pu apparaître tardivement. Néanmoins, lorsque la dose infectante est élevée, comme c'est le cas ici, cette phase est réduite à quelques jours. ([Dargantes, 2006](#)). En définitif, le porc est certes sensible à l'infection mais la maladie reste en générale bénigne.

Jusqu'à la fin de l'expérience, les témoins P1 et P3 se sont révélés négatifs en parasitologie, sérologie et PCR tandis que P2 et P4 se sont trouvés positifs dès la première semaine suivant l'infection. Les prélèvements, étalés sur une courte période, n'ont pu être effectués tous les jours, de par le jeune âge des animaux. C'est pourquoi, la parasitémie fluctuante habituellement observée lors de trypanosomoses ([Gill, 1977](#); Figure 4) ne se reflète pas ici. En outre, elle suit le même schéma entre P2 et P4 malgré une dose infectante plus élevée pour P2. Néanmoins, P2 afficha une plus forte parasitémie. Cela montre une fois encore la relation liant dose infectante et niveau de parasitémie ([Dargantes, 2006](#) ; [Gill, 1977](#)). Ensuite, la prolifération du parasite confirme les propos énoncés plus au sujet de la sensibilité du porc. Enfin, les résultats, en accord avec la littérature, montre une sensibilité plus accrue pour le test de Woo que pour l'étalement de sang frais, en contrôlant positif plus précocement P4.

A la vue des résultats, l'ELISA indirect se révèle être un bon outil pour le diagnostic du surra chez le porc. Comme observé précédemment par Holland *et al.* ([2005](#)) et Tuntasuvan *et al.* ([2003](#)), dès la deuxième semaine des anticorps dirigés contre *T. evansi* sont détectés. En revanche, le CATT semble incapable de détecter l'infection alors que les témoins sont contrôlés négatifs. La fiabilité de cet outil ne fût jamais remise en cause ou évaluée jusqu'en 2005 ou le CATT a été reporté déficient ([Holland et al., 2005](#)). En effet, celui-ci semblait perdre son habilité à discriminer individus infectés et sains. Ceci suggère donc que l'ELISA, contrairement au CATT, est approprié pour confirmer le statut du porc face à l'infection.

Les résultats par PCR, en accord avec ceux obtenus par les autres outils usuels, confirment le statut naïf des porcelets avant infection. En effet, d'après Masiga *et al.* ([1992](#)) et confirmé par Pruvot ([2008](#)), la PCR, via le couple d'amorces TBR, détecte sans équivoque la présence du parasite dès un trypanosome en discriminant l'ADN non cible et l'excès d'ADN issu de l'hôte. Cet outil est donc à la fois très sensible et spécifique. Néanmoins, au cours de l'infection certains prélèvements positifs en parasitologie furent négatifs par PCR. ; or le test de Woo a une limite de détection bien supérieure aux alentours de $0,5-1.10^2$ tryps/ml. Ces résultats inexplicables peuvent être causés par la méthode d'extraction employée. Dans le contexte Asie du Sud-est où seul la trypanosomose animale est présente, les travaux de Pruvot ([2008](#)) ont montré une meilleure performance des amorces TBR pour *T. evansi*, tant en sensibilité qu'en qualité du signal, comparé à d'autres couples d'amorces. De même pour la méthode d'extraction au phénol-chloroforme qui s'est avérée la plus appropriée ([Kamyngkird et al., en cours de publication](#)). La PCR étant très sensible et spécifique, il est très aisé de contaminer par inadvertance les échantillons testés. Ainsi, les résultats obtenus peuvent faire suite à une erreur lors de l'extraction de l'ADN. Malheureusement faute de stock une partie n'a pu être extraite une nouvelle fois pour confirmation. Les résultats peuvent aussi être faussés par le volume d'échantillon introduit dans le milieu réactionnel. En effet, il est tout à fait probable que la quantité infime d'ADN contenu dans l'échantillon ne soit pas prélevée lors de la préparation du *master mix*. Enfin des destructions occasionnelles de l'ADN par contaminations enzymatiques (DNases) sont toujours possibles.

4. Conclusion

Ceci étaya les conclusions de précédentes études concernant le tableau clinique du porc vis-à-vis de *T. evansi*. En dépit de sa sensibilité à l'infection, la maladie resta bénigne sur le court pas de temps qu'à duré l'expérience. Un suivi plus long et journalier serait nécessaire afin de confirmer ces propos. Le diagnostic étant la base de toute enquête épidémiologique, cette infection permet d'affirmer la fiabilité de chacun des outils usuels. Ainsi, contrairement au CATT, l'ELISA et la PCR se sont avérés appropriés pour confirmer le statut du porc.

Chapitre 2 : Etudes sérologiques de la trypanosomose et trichinellose chez les porcs dans la province de Chiang Raï, Thaïlande et dans le Nord Vietnam.

Ce chapitre se propose d'étudier deux parasitoses affectant le porc. La trypanosomose sera d'abord abordée. En effet, par la circulation à bas bruit du parasite au sein du cheptel porcin, cette maladie est complètement négligée et/ou ignorée. Ensuite, ce chapitre portera sur la trichinellose qui chaque année est responsable de nombreux décès suite à la consommation de mets à base de viande de porc crue.

Cette étude préliminaire rétrospective a pour ambition de faire d'une part un point sur la trichinellose en Thaïlande, où l'épidémiologie est bien connue, et d'avoir un premier aperçu de son occurrence au Vietnam et d'autre part estimer la séroprévalence de *T. evansi* pour ces deux pays.

1. Matériel et méthodes

1.1. Antigène pour l'ELISA

L'ELISA employé pour *T. spiralis* est basé sur l'utilisation d'antigène excrétoire-sécrétoire. Ce dernier ainsi que le protocole et plusieurs contrôles positifs (13) et négatifs (20) ont été gracieusement fournis par le Dr. Vu Thi Nga, du National Centre for Veterinary Diagnostics (NCVD), Hanoi, Vietnam. Concernant *T. evansi* se référer à la partie 2 (1.1.1.).

1.2. Populations étudiées

Un premier lot, 297 échantillons du Vietnam, a gracieusement été donné par le Dr. Carlène Trevennec de l'UMR AGIRs CIRAD, Montpellier, France. Ils ont été récoltés pour une enquête visant à estimer la prévalence annuelle de l'influenza porcine dans le Delta du Fleuve Rouge. Toutes les deux semaines, un échantillonnage aléatoire a été mené au sein des abattoirs d'Hanoï à raison de 50 porcs et estimer la séroprévalence à un risque d'erreur de 5%. Le deuxième lot du Dr. Sununta, concerne deux districts, Mae Chan et Mae Pha Luang, de la province de Chiang Rai au Nord de la Thaïlande, limitrophes à la Chine. La prévalence chez le porc de *backyard* dans la région Nord étant de 11% (8/70) ([Takahashi et al., 2000](#)) un échantillonnage de 109 animaux suffit pour estimer la séroprévalence avec un risque d'erreur de 6% ([Martin et al., 1988](#)).

1.3. Prélèvements et sérologie

Les prélèvements sanguins ont été effectués au niveau de la veine jugulaire comme énoncé pour les porcelets (Partie 3, Chap 1, 1.2) N'ayant que du sérum à disposition, seul un diagnostic sérologique, basé sur ELISA (CATT pour *T. evansi*) a été conduit (Partie II, 1.2.). Les ELISA s'inspirent, respectivement pour *T. spiralis* et *T. evansi*, de celui fourni par le Dr. Vu Thi Nga (NCVD) après avoir été standardisé localement ([Annexe 2.2](#)) et de celui appliqué pour les buffles à l'Université de Kasetsart ([Annexe 2.1.B](#)).

Les contrôles utilisés pour la trichinellose sont issus des échantillons de références fournis par le Dr. Vu Thi Nga du NCVD. Ceux pour la trypanosomose proviennent de l'infection expérimentale des porcelets (Partie III Chap 1). Le même protocole que pour les buffles est

suivi concernant l'expression des résultats en PPR, la détermination du seuil de positivité et l'analyse des résultats (Partie II, 1.2.2.2.).

2. Résultats

2.1. *Trypanosoma evansi*

2.1.1. Résultats généraux

Les contrôles ont été sélectionnés parmi les échantillons issus de l'infection expérimentale des porcelets. Trois contrôles positifs ont été sélectionnés parmi les derniers prélèvements avant traitement, soit à plus de 3 semaines PI, s'assurant ainsi que la séroconversion ait bien eu lieu (1 pour P2, 2 pour P4). Pour les contrôles négatifs, la moyenne des DO du groupe négatif, constitué des échantillons témoins (P1-P3) et de P2-P4 avant infection, a été déterminée. Etant de $\mu_n=0,0701$, trois contrôles négatifs, bornant à $\pm 10\%$ la moyenne, ont été sélectionnés :

$$\begin{aligned} \text{Contrôles négatifs : } C_{1-} &= 0,066 & C_{2-} &= 0,074 & C_{3-} &= 0,081 \\ \text{Contrôles positifs : } C_{1+} &= 0,435 & C_{2+} &= 0,573 & C_{3+} &= 0,662 \end{aligned}$$

L'ensemble des échantillons (NV+CR) ont ensuite été testés en double à l'ELISA avec les 6 contrôles. Un seuil de positivité arbitraire et temporaire de 20%, moyenne des PPR des échantillons (P2-P4) des semaines 1-3 PI, a été utilisé afin d'écarter les positifs des négatifs. En se basant sur la moyenne des PPR du groupe négatif ($RPP < 20\%$), un seuil de positivité à 3σ de la moyenne a été déterminé : $(0,63\% + (3 * 5,71\%)) = 17,8\%$. Un échantillon a donc été considéré positif lorsqu'il affichait un $PPR \geq 17,8\%$.

✂ Thaïlande – La province de Chiang Rai (CR)

Parmi les 147 échantillons testés, répartis sur 27 fermes, 12 étaient séropositifs (8,2%, IC à 95% \pm 4,4%) et tous présentaient un $PPR > 20\%$ (Figure 18). Ils provenaient de 9 fermes (33,3%, IC à 95% \pm 17,8%) qui regroupaient 57 animaux potentiellement exposés à la maladie soit 38,8% (IC à 95% \pm 7,9%) de la population échantillonnée avec une prévalence de 29,6% (IC à 95% \pm 6,0%).

✂ Vietnam – Région Nord (NV)

Parmi les 296 échantillons testés, 18 étaient séropositifs (6,1%, IC à 95% \pm 2,7%) et provenaient de 6 des 11 provinces (54,5%, IC à 95% \pm 29,4%) (Tableau 5). Sur ces 18 échantillons, 14 avaient un $PPR > 20\%$ (Figure 18).

Tableau 5 : Résultats sérologiques (ELISA) des provinces touchées par l'infection chez les porcs du Nord Vietnam

| Province infectée | Hà Nam | Hà Nội | Hải Dương | Thanh Hoá | Vĩnh Phúc | Yên Bái |
|-------------------|---------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--|--------------------------------------|--------------------------------------|
| Prévalence | 8/172= 4,7% (IC \pm 3,1%) | 2/47= 4,3% (IC \pm 5,8%) | 1/21= 4,8% (IC \pm 9,1%) | 3/28= 10,7% (IC \pm 11,5%) | 2/35= 5,7% (IC \pm 7,7%) | 2/32= 6,3% (IC \pm 8,4%) |

2.1.2. Résultats sérologiques

La prévalence sérologique sur les 443 échantillons (147+296), était de 5,0% (IC à 95% \pm 2,0%) et 6,8% (IC à 95% \pm 2,3%) pour le CATT et l'ELISA soit 22 et 30 positifs.

Par pays, deux tendances s'observaient. Au NV, la séroprévalence fût plus élevée pour l'ELISA (6,1% ; PPR>19% ; IC à 95% $\pm 2,7\%$) que pour le CATT (2,4% ; -9%<PPR<41% ; IC à 95% $\pm 1,7\%$) contrairement à CR avec 8,16% pour l'ELISA (PPR \geq 20% ; IC à 95% $\pm 4,4\%$) et 10,2% pour le CATT (-4%<PPR<63% ; IC à 95% $\pm 4,9\%$).

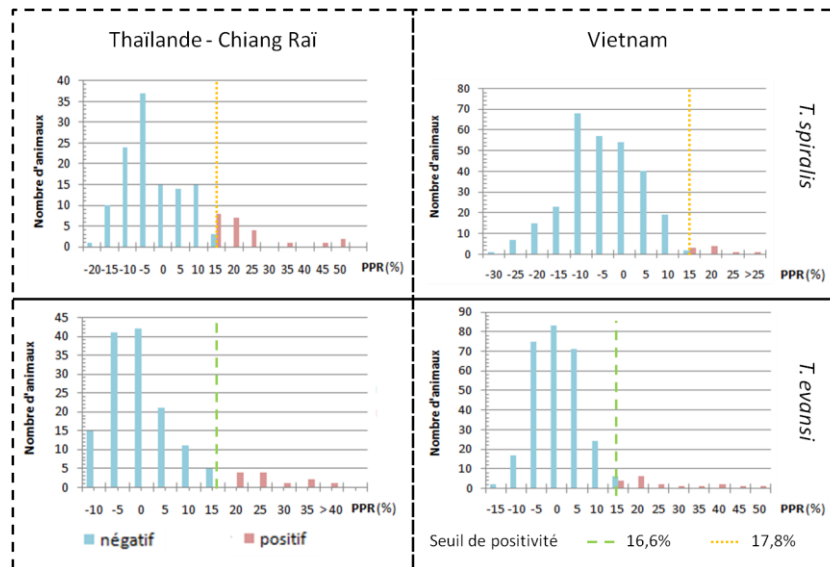


Figure 18 : Distribution des valeurs de PPR pour les échantillons de porcs face à *T. evansi* et *T. spiralis* (horizontale) au Vietnam et en Thaïlande (verticale).

2.1.3. Sexe

Les deux sexes étaient représentés. Parmi les 147 et 296 échantillons, respectivement pour CR et le NV, les mâles représentaient 44,2% et 41,2% de la population.

En considérant les échantillons dans leur globalité, une séroprévalence de 6,95% (IC à 95% 3,6%) pour les mâles et 6,64% (IC à 95% 3,1%) pour femelles a été déterminée. Aucune différence significative n'a été observée entre les deux sexes ($\text{Khi}^2 = 0,0138$; $p = 0,5259$).

2.1.4. Race

La race de l'animal a été renseignée dans le cadre de l'enquête au sein des abattoirs d'Hanoï. Les animaux « F1 », première génération d'individus exotiques, étaient majoritaire et représentaient 74,7 % de la population (IC à 95% 5,0%) contre 23,3% (IC à 95% 4,8%) et 1,4% (IC à 95% 1,3%) pour la race exotique et locale.

Les animaux les plus sujets à l'infection étaient de race exotique (7,2%, IC à 95% 6,1%) suivit de F1 (5,9%, IC à 95% 3,1%). Les 4 animaux de races locales ne présentaient pas de traces sérologiques de l'infection, CATT et ELISA étant tous deux négatifs. Cependant, aucune différence significative ne fût observée entre ces trois races ($\text{Khi}^2 = 0,4347$, $p = 0,8047$) ou même entre F1 et exotique ($\text{Khi}^2 = 0,1675$; $p = 0,4335$).

2.1.5. Distribution géographique

La séroprévalence de *T. evansi* chez les porcs a été déterminée à l'échelle du district, du sub-district et de la ferme, l'ensemble des échantillons étant issu de la province de Chiang Raï, Thaïlande. Ceci n'a pu être effectué pour le Vietnam ne disposant d'information qu'à l'échelle de la province.

œ District

Seuls deux districts de la province de Chiang Raï ont été échantillonnés. Parmi les 12 séropositifs, les 2/3 étaient originaires du district de Mae Chan. La prévalence s'élevait à 9,6% (IC à 95% \pm 6,3%) contre 6,3% (IC à 95% \pm 5,9%) pour Mae Pha Luang. Ces séropositifs provenaient respectivement de 6 (37,5%, IC à 95% \pm 23,7%) et 3 (27,3%, IC à 95% \pm 26,3%) fermes avec une prévalence moyenne (mPFI) de 32,4% (IC à 95% \pm 15,3%) et 16,9% (IC à 95% \pm 4,5%).

œ Sub district

Les 4 sub-districts furent touchés. Les prévalences s'étendaient de 2,1% (IC \pm 4,1%) pour Mae Sa Long Nok à 17,6% (IC \pm 18,1%) pour Mae Pha Luang ; tout deux appartenaient au district de Mae Pha Luang. Pour la prévalence des fermes et la prévalence moyenne des fermes infectées celles-ci s'échelonnaient respectivement de 12,5% à 66,7% (PF) et de 14,3% à 66,7% (mPFI) (Tableau 6).

Tableau 6 : Résultats sérologiques (ELISA) chez les porcs dans 4 sub-districts de la province de Chiang Raï, Thaïlande

| Sub-district | Psd prévalence sub-district | PF prévalence ferme infectée | mPFI moyenne prévalence ferme infectée |
|-----------------|--------------------------------|---------------------------------|--|
| Mae Sa Long Nok | 1/47 = 2,1% (IC \pm 4,1%) | 1/8 = 12,5% (IC \pm 22,9%) | 14,3% ; 1 ferme infectée |
| Mae Pha Luang | 3/17 = 17,6% (IC \pm 18,1%) | 2/3 = 66,7% (IC \pm 53,3%) | 18,3% ; IC \pm 5, % |
| Pa Tung | 6/50 = 12,0% (IC \pm 9,0%) | 4/8 = 50,0% (IC \pm 34,6%) | 20,6% ; IC \pm 4,4% |
| Mae Kam | 2/33 = 6,1% (IC \pm 8,1%) | 2/8 = 25,0% (IC \pm 30,0%) | 66,7% ; IC \pm 46,2% Dont 1 ferme d'un animal |

œ Ferme

Les animaux sont issus de ferme comptant entre 1 à 12 porcs. Les petites unités (<5 animaux) concernaient 37,0% (10/27) fermes alors que seulement 11,1 % (3/27) des fermes étaient formées de 10 porcs ou plus.

Les fermes en présence et en absence de l'infection étaient distribuées sur l'ensemble des points de collecte. Sur les 27 fermes, 9 présentaient des traces sérologiques soit 33,3% d'entre elles (IC à 95% \pm 17,8%) dont une d'un seul porc (Mae Kam). En omettant cette dernière, la séroprévalence s'échelonnait de 13 à 33%. A noter que seul un séropositif, voir deux dans 1/3 des cas, fût mis en lumière et ce quelque soit la taille de la ferme.

Seules 2 fermes infectées (22,2%), provenant de Mae Kam, avaient moins de 5 porcs (1&3) et les plus affectées étaient regroupées à Pa Tung. Enfin, la mPFI la plus élevée revenait à Mae Kam, détenant les 2 fermes à faibles effectifs, suivit du sub-district de Pa Tung (Tableau 6).

2.2. *Trichinella spiralis*

Les échantillons de références ont été testés en ELISA et 3 contrôles négatifs et positifs ont été choisis. Après expression des résultats en PPR, un seuil de positivité arbitraire et temporaire de 22% (PPR limite des positifs) a été déterminé. Le groupe d'échantillons de CR issus de fermes considérées indemnes, absence de $PPR \geq 22\%$, a été constitué et un seuil de positivité à 2σ de la moyenne a été calculé : $(-0,23\% + (2 * 8,19\%)) = 16,6\%$. Un échantillon a donc été considéré positif lorsqu'il affichait un $PPR \geq 16,6\%$ (Figure 18).

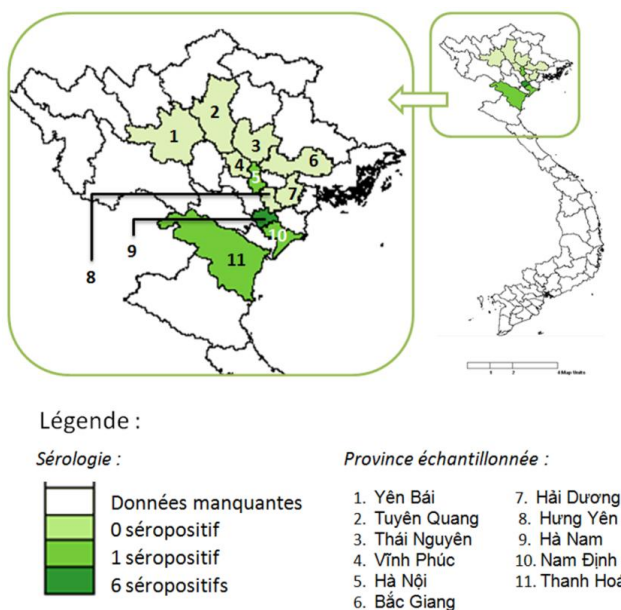
2.2.1. Thaïlande

Parmi ces échantillons, 23 étaient séropositifs (15,6%, IC à 95% \pm 5,9%) et provenaient de 10 fermes (37,0%, IC à 95% \pm 18,2%). Elles regroupaient au total 52 animaux qui furent donc potentiellement exposés à la maladie soit 35,4% (IC à 95% \pm 7,7%) de la population échantillonnée pour une prévalence de 45,6% (IC à 95% \pm 5,7%).

Les deux districts échantillonnés ont présenté des traces sérologiques de l'infection. La prévalence était de 6,0% (IC à 95% \pm 5,1%) pour Mae Chan et 28,1% (IC à 95% \pm 11,0%) pour Mae Pha Luang : comptabilisant 18 des 23 séropositifs avec respectivement 25,0% et 54,5% (IC à 95% \pm 21,2% et 29,4%) de fermes infectées.

A l'échelle du sub-district, tous ont présenté des traces sérologiques de l'infection mais à des degrés différents. Les prévalences étaient de 2,0% (IC \pm 3,9%), 12,1% (IC \pm 11,1%), 12,8% (IC \pm 9,5%) et 70,6% (IC \pm 21,7%) respectivement pour Pa Tung, Mae Kam, Mae Sa Long Nok, Mae Pha Luang. Enfin, la prévalence des fermes et la prévalence moyenne des fermes infectées s'échelonnaient de 12,5% à 66,7% (PF) (IC \pm 22,9% et 53,3%) et de 12,5% (une ferme) à 74,6% (IC \pm 4,4% ; mPFI).

2.2.2. Vietnam



Les échantillons étaient répartis sur 11 provinces toutes situées au NV. Parmi eux, 9 furent séropositifs, soit 3,0% de la population (IC à 95% \pm 2,0%), et provenaient de 4 provinces (36,4%, IC à 95% \pm 28,4%).

La prévalence était respectivement de 2,1% (IC à 95% \pm 4,1% soit 1/47), 3,5% (IC à 95% \pm 2,7% soit 6/72), 3,6% (IC à 95% \pm 6,9% soit 1/28), 5,6% (36,4%, IC à 95% \pm 10,6% soit 1/18) pour la province de Hà Nội, Hà Nam, Thanh Hoá, Nam Định (Figure 19).

Figure 19 : Localisation des échantillons au Vietnam et sérologie pour *T. spiralis*.

3. Discussions

3.1 *T. evansi*

L'ELISA est couramment utilisé en épidémiologie car peu coûteux, rapide et aussi spécifique que sensible (OIE, 2005). De plus, l'ELISA/*T. evansi* a été évalué et standardisé précédemment chez le porcelet (partie II) et les résultats furent encourageants contrairement au CATT ((Holland *et al.*, 2005, partie II).. Enfin, seuls des échantillons sanguins furent disponibles pour mener à terme cette étude. Dans ce contexte, l'enquête sérologique a été optée et décrire au mieux la situation épidémiologique actuelle.

A partir des groupes négatifs constitués, un seuil de positivité à 3σ de la moyenne a été défini : de 2 à 3σ la sensibilité fût meilleure pour une spécificité inchangée. En effet, les animaux qui se révélaient séropositifs à 3σ étaient issus de fermes déjà infectées à 2σ tout du moins pour CR. Le manque de données ne permet d'en dire autant pour le NV. Ce seuil et les résultats ont été exprimés en PPR pour limiter les variations journalières ([Desquesnes, 1997](#)).

L'ensemble des échantillons séropositifs de CR et les $\frac{3}{4}$ du NV présentaient un $PPR > 20\%$ pour un seuil de positivité de 17,8%. Ne pouvant conduire d'examen moléculaire et/ou parasitologique, la VPN et la VPP n'ont pu être estimées ici. C'est pourquoi, il serait nécessaire d'évaluer cet outil sur des échantillons de terrain, représentatif de la population, préalablement testés par PCR / test de Woo entres autres pour confirmer le statut de l'animal. En comparant CATT et ELISA, la séroprévalence est sensiblement la même sur l'ensemble de l'échantillonnage. Par contre, que se soit pour le NV ou CR seul un échantillon s'est révélé séropositif aux deux tandis que ceux positifs au CATT présentaient un $PPR < 10\%$. Cette divergence peut s'expliquer par une récente infection, la séroconversion étant plus tardive l'ELISA dépiste comme sain un animal nouvellement infecté ([OIE, 2005](#)). Néanmoins, ce cas n'étant pas isolé et d'après les résultats d'[Holland et al. 2005](#) et de ceux obtenus précédemment (partie II), il semblerait que le CATT soit la cause de ces divergences.

Cette enquête sérologique préliminaire réalisée sur l'élevage porcin à CR, Thaïlande et au NV révéla que l'infection à *T. evansi* était largement répartie.

A Chiang Raï, des traces avérées de l'infection ont été retrouvées sur l'ensemble des points de collecte. La prévalence obtenue était similaire à celle des bovins laitiers ([Desquesnes et al., 2009b](#)). Pourtant, d'après Muzari *et al.* (2010), les porcs sont plus sujets aux piqûres car d'une part ils ignorent les insectes, aucuns comportements de défense, et d'autre part leur faible pilosité sur l'ensemble du corps les rendent plus attractifs. Ces facteurs de risque auxquels s'ajoute la densité de population pourrait pondérer la prévalence et expliquer un résultat similaire entre les deux hôtes. Or les buffles, plus sensibles, sont moins nombreux tant du point de vue du cheptel qu'en termes d'effectif par ferme. La prévalence serait donc bien la conséquence d'un système épidémiologique complexe (cf partie II.3).

Le district de Mae Chan regroupait les $\frac{2}{3}$ des séropositifs tandis que celui de Mae Pha Luang possédait les sub-districts ayant la plus forte et plus faible prévalence (2,1 et 17,6%). Ceci montre bien que l'hétérogénéité est d'autant plus grande que l'aire géographique considérée s'amenuise ([Desquesnes et al., 2009b](#)). Il est difficile d'affirmer la cause d'une telle différence sachant aucune estimation de la prévalence chez les porcs n'a encore été faite. Mais comme pour les buffles, il est très probable que le taux de transmission soit un facteur déterminant (cf partie II.3). Enfin, ces facteurs pourrait expliquer pourquoi les exploitations infectées ne présentaient qu'un ($\frac{2}{3}$ des fermes) ou 2 ($\frac{1}{3}$) séropositifs.

Au Vietnam, $\frac{3}{4}$ des provinces ont présenté des traces sérologiques de l'infection. La prévalence était sensiblement la même (5%) mise à part pour Thanh Hoá ($> 10\%$). Comme précédemment, ces divergences peuvent trouver leur origine dans le taux de transmission du parasite via les tabanides. Pourtant, contrairement à la Thaïlande, la pluviométrie (2000 mm/an) et la température (t° annuelle $28,5^\circ\text{C}$) sont sensiblement les mêmes sur l'ensemble du pays ([WorldTradePress, 2007](#)). Néanmoins, par manque d'information sur la provenance exacte des animaux, [système&pratique d'élevage/localisation] sans compter les lacunes en entomologie, il est difficile d'en dire plus.

Pour finir, aucun des paramètres, mise à part géographique, s'est avéré à risque ici. Aucune différence significative n'a été mise en avant ici pour la race et le sexe, ($p > 0,4$). Cependant, de part l'échantillonnage (cf. 2.1.4) et les observations faites chez d'autres espèces, comme les buffles aux Philippines ([Reid, 2002](#)), il est difficile d'affirmer ici que la race n'est pas

impliquée contrairement au sexe. En effet, les divergences traduisent souvent une différence non pas entre les sexes mais dans la conduite d'élevage entre les deux sexes, comme pour les camélidés ([Dia et al. 1997b](#) ; [Njiru et al., 2004](#) ; [Shah et al., 2004](#)). Or, cette séparation dans la conduite d'élevage ne se retrouve pas dans l'élevage porcin ([ILRI, 2009](#) ; [Simarak et al., 2005](#)). Enfin, dû à l'échantillonnage cette enquête n'a pas permis d'évaluer l'âge (résultats non présentés). Cependant, ce paramètre est déjà cité dans la littérature comme étant un facteur de risque chez d'autres espèces comme les buffles ([Dargantes et al., 2009](#) ; [Davison et al., 2000](#) ; [Payne et al., 1991](#)), les bovins ([Desquesnes et al., 2009b](#)) et les camélidés ([Dia, 1997b](#), [Elamin et al., 1998](#) ; [Njiru et al., 2004](#) ; [Shah 2004](#)).

3.2 *T. spiralis*

Comme précédemment, un seuil de positivité a été calculé, à partir du groupe négatif constitué, mais à 2σ de la moyenne cette fois-ci. En effet, à 3σ le gain en spécificité était moindre en comparaison de la perte en sensibilité. De la même manière, ce seuil ainsi que les résultats ont été exprimés PPR pour limiter les variations journalières ([Desquesnes, 1997](#)).

L'ELISA, avec un seuil de 16,6%, est proche de celui déterminé par Vu Thi *et al.* ([2010](#)) lors de leur enquête au NV. L'ensemble des échantillons séropositifs de NV et les $\frac{3}{4}$ de CR présentaient un $PPR \geq 19\%$. Ne pouvant conduire d'autres examens en parasitologie/sérologie, la sensibilité de même que la spécificité du test n'ont pu être estimées ici.

Au Vietnam, 1/3 des provinces ont présenté des traces sérologiques de l'infection. La séroprévalence s'échelonnait de 2,1% pour Hà Nội à 5,6% pour Nam Định. A Chiang Rai (Thaïlande), l'occurrence de l'infection était plus élevée (15,6%, IC à 95% \pm 5,9%) et rejoignait celles obtenues pour des porcs de *backyard* au Nord de la Thaïlande (11,4% ; [Takahashi et al., 2000](#)) et au Nord du Vietnam (9,4 à 25,7% ; [Vu Thi et al., 2010](#)).

Malgré l'absence d'information sur la provenance exacte des porcs du NV, l'hypothèse la plus probable serait qu'ils proviennent d'exploitations industrielles et non d'élevage de type *backyard*, l'échantillonnage s'étant effectué en abattoir. Ceci pourrait expliquer cela. En effet, les porcs de *backyards* sont en liberté. Pâturant/divaguant, ils sont nourris par les eaux grasses et/ou les carcasses de gibiers, et sont en contact permanent avec les rongeurs. ([Gamble et al., 2000](#) ; [Pozio & Murrell, 2006](#)). Autrement dit, toutes les conditions sont réunies pour que le cycle se fasse ([FAO/WHO/OIE, 2007](#)) contrairement aux exploitations industrielles où les porcs sont confinés et leur alimentation contrôlée. Cependant, des infections peuvent avoir lieu à travers des carcasses de rats, le silo à grains est alors souvent incriminé ([Oivanen et al., 2002](#)). Cet écart de prévalence entre les deux systèmes d'élevage montre une fois encore l'importance des bonnes pratiques d'élevages ([FAO/WHO/OIE, 2007](#)).

Cependant, ceci n'explique pas tout. En effet, à la simple vue des résultats, il semblerait que l'aire géographique n'entre pas en ligne de compte sachant que les prévalences étaient similaires entre les deux pays pour un même type d'élevage. Or, il est important de noter que CR et les provinces touchées du NV sont situées entre le nord du Laos et le sud de la Chine (province du Yunnan), qui sont deux localités où l'infection présente une forte prévalence chez le porc domestique ([Barennes et al., 2008](#) ; [Pozio, 2007](#) ; [Takahashi et al., 2000](#)). En outre à CR, les prévalences allaient du simple au double pour les districts et s'échelonnaient de 2,0 à 70,6% pour les sub-districts.

Pour finir, différentes ethnies du Nord, comme les H'Mong au Vietnam, consomment régulièrement du porc cru à travers divers mets traditionnels. Malheureusement, ils sont bien souvent inconscients des risques encourus et des moyens de base pour prévenir la transmission de cette maladie. ([Kaewpitoon et al., 2006](#) ; [Vu Thi et al., 2010](#)). Cependant à CR, où les échantillonnages ont eu lieu, la population est dorénavant sensibilisée. C'est ainsi

que la majorité des personnes consomment de la viande préalablement bouillie, les animaux sont généralement abattus par le « grossiste » et ceux décédés de manière inexpliquée sont incinérés. Ainsi depuis 2006, aucun foyer de trichinellose humaine n'a été déclaré ([Sununta, 2010](#)). Ceci confirme l'impact du manque d'éducation et des pratiques culturelles dans le maintien de cette zoonose ([FAO/WHO/OIE, 2007](#)).

Pour finir, dû à l'échantillonnage cette enquête n'a pas permis d'évaluer l'âge (résultats non présentés). Cependant, ce paramètre est déjà cité dans la littérature comme étant un facteur de risque. En effet, Vu Thi *et al.* ([2010](#)) ont remarqué une augmentation de la séroprévalence au fil des classes d'âge [<2 mois jusqu'à $9 < x < 36$ mois]. En définitive, la probabilité d'avoir été en contact avec le parasite et part conséquent de présenter des Ac spécifiquement dirigé contre lui, sera d'autant plus forte que l'animal sera âgé. Pour la race et le sexe, aucune différence significative n'a été mise en avant ici ($p > 0,2$; résultats non présentés). Cependant, de part l'échantillonnage (cf. 2.1.4) il est difficile d'affirmer ici que la race n'est pas impliquée.

4. Conclusion

La mise en évidence de réaction immunitaire à l'encontre de *T. evansi* prouve que les porcs sont ou tout du moins ont été en contact avec le parasite. La présence même de celui-ci n'a cependant pas été confirmée par PCR/Woo. La circulation active du parasite au sein de ces populations, même si fortement suspectée, n'est pas confirmée. Néanmoins, cette étude montra d'une part que l'ELISA contrairement au CATT, s'avérait une fois encore plus efficace. D'autre part, seul la composante géographique s'affirma comme facteur de risque.

Aux vues des répercussions économiques et sanitaires ([Holland et al., 2005](#)), une étude longitudinale serait nécessaire sachant que les outils de diagnostic sont disponibles. Ceci permettra d'une part d'évaluer convenablement l'ELISA, confirmer la circulation active du parasite, (ré)estimer les facteurs de risque, comme la race, et avoir une connaissance approfondie de la situation épidémiologique non pas à l'échelle d'une province ou d'une région mais bien nationale. Ceci permettra par exemple la mise en place de campagnes sanitaires adaptées et conjointes à celle de la PPC.

Comme pour *T. evansi*, la mise en évidence de réaction immunitaire à l'encontre de *T. spiralis* prouve que les porcs ont été en contact avec le parasite. La circulation active du parasite au sein de ces populations, même si fortement suspectée, n'a cependant pas été confirmée par la parasitologie. Cette étude montra le rôle non négligeable de l'homme dans le maintien du cycle de *T. spiralis* par le système d'élevage, l'éducation et les pratiques culturelles. En ce qui concerne le porc, mise à part la composante géographique aucun des paramètres ne s'affirma comme facteur de risque.

Aux vues des répercussions de cette zoonose ([Kaewpitoon et al., 2006](#) ; [Takahashi et al., 2000](#)), particulièrement au NV cœur de la filière porcine vietnamienne où la majorité des élevages sont des *backyards* ([ILRI, 2009](#)), une investigation conjointe dans ces deux pays mériterait d'être reconduite à travers différents systèmes d'élevage et échelles géographiques. Ceci permettrait d'une part de clairement montrer les facteurs de risque et d'autre part évaluer la fiabilité de l'ELISA à l'échelle régionale pour une standardisation en Asie du SE des résultats. Enfin, une enquête sociologique en parallèle permettra de faire un état des lieux des pratiques car malheureusement ceci n'a pu aboutir lors de cette enquête.

Bibliographie

- Ancelle, T. 2002. Statistiques épidémiologiques. Paris, France, Maloine 2^{ème} éd., 299 p. (coll. Sciences Fondamentales)
- Antoine-Moussiaux, A., Desmecht, D. 2008. Epidémiologie de l'infection par *Trypanosoma evansi*. *Ann. Med. Vet.* **152**: p. 191-201.
- Appleyard G.D., Forbes L.B. & Gajadhar A.A. 2002. National serologic survey for trichinellosis in sows in Canada 1996-1997. *Can. vet. J.*, 43, 271-273 (Cité dans OIE, 2007).
- Arunasalam, V., Chandrawathani, P., Sivanandan, S. 1995. An outbreak of *Trypanosoma evansi* infection in pigs. *J. Vet. Malaysia* **7**: p. 71-73.
- [AUSVETPLAN] Australian Veterinary Emergency Plan: Disease Strategy: Surra (Version 3.0). 2006. Animal Health Australia, Canberra, ACT.
Access: <http://www.animalhealthaustralia.com.au>
- Baldwin, J.L., Foil, L.D., Hogsette, J.A. 2005. Important Fly Pests of Louisiana Beef Cattle. *Louisiana State University Agricultural Center, Online publication* **2617**.
- Barennes, H., Sayasone, S., Odermatt, P., De Bruyne, A., Hongsakhone, S. Newton, P. N., Vongphrachanh, P., Martinez-Aussel, B., Strobel, M., Dupouy-Camet, J. 2008. A Major Trichinellosis Outbreak Suggesting a High Endemicity of *Trichinella* Infection in Northern Laos. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **78**(1) : p. 40-44.
- Bawm, S., Matsuura, H., Elkhateeb, A., Nabeta, K., Subeki, Nonaka, N., Oku, Y., Katakura, K. 2008. *In vitro* antitrypanosomal activities of quassinoid compounds from the fruits of a medicinal plant, *Brucea javanica*. *Vet. Parasitol.* **158**: p. 288-294; Online publication J-Stage Déc 2009.
- Bawm, S., Tiwananthagorn, S., San Lin, K., Hirota, J., Irie, T.1, Htun, L. L., Maw, N. N., Myaing, T. T., Nyunt Phay, N., Miyazaki, S., Sakurai, T., Oku, Y., Matsuura, H., Katakura, K. 2010. Evaluation of Myanmar Medicinal Plant Extracts for Antitrypanosomal and Cytotoxic Activities. *J. Vet. Med. Sci.* **72**(4): p. 525-528.
- Boonthanom, P., Nawarat, A. 1963. The outbreaks of trichinosis at Amphur Mae Sarialng. *Bull Pub Health* **33**: p. 301-308 (cite dans Takahashi *et al.*, 2000).
- Borst, P., Fase-Fowler, F., Gibson, W. 1987. Kinetoplast DNA of *Trypanosoma evansi*. *Mol. Biochem. Parasitol.* **23**: p. 31-40. (cité dans Schnaufer *et al*, 2002).
- Bruce, D. 1911. The Morphology of *Trypanosoma evansi* (Steel). *Roy. Soc. Proc. B*, **81**: p. 16-17.
- Brun, R., Hecker, H., Lun, Z-R. 1998. *Trypanosoma evansi* and *T. equiperdum*: distribution, biology, treatment and phylogenetic relationship. *Vet. Parasitol.* **79**: p. 95-107.
- Capo, V., Despommier, D. D. 1996. Clinical Aspects of Infection with *Trichinella spp.*. *Clin. Microbiol. Rev.* **9**(1): p. 47-54
- Dargantes, A. P. 73rd Philippine Vet. Med. Assoc. Annual Conv., Feb. 22-24, 2006, Baguio City, Philippines.
- Dargantes, A. P., Mercado, R. T., Dobson, R. J., Reid, S. A. 2009. Estimating the impact of *Trypanosoma evansi* infection (surra) on buffalo population dynamics in southern Philippines using data from cross-sectional surveys. *International J. for Parasitol.* **39**: p. 1109-1114
- Davison, H. C., Thrusfield, M. V., Muharsini, S., Husein, A., Partoutomo, S., Rae, P. F., Masake, R., Luckins, A. G. 1999. Evaluation of antigen detection and antibody detection tests for *Trypanosoma evansi* infections of buffaloes in Indonesia. *Epidemiol. Infect.* **123** : p. 149-155.

- Davison, H. C., Thrusfield, M. V., Husein, A., Muharsini, S., Partoutomo, S., Rae, P. F., Luckins, A. G. 2000. The occurrence of *Trypanosoma evansi* in buffaloes in Indonesia, estimated using various diagnostic tests. *Epidemiol. Infect.* **124** : p. 163±172.
- Desquesnes, M. 1997. Standardisation internationale et régionale des épreuves immuno-enzymatiques: méthode, intérêts et limites. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.* **16** : p. 809–823.
- Desquesnes, M., Bossard, G., Thevenon, S., Patrel, D., Ravel, S., Pavlovic, D., Herder, S., Patout, O., Lepetitcolin, E., Hollzmuller, P., Berthier, D., Jacquiet, P., Cuny, G. 2009a. Development and application of an antibody-ELISA to follow up a *Trypanosoma evansi* outbreak in a dromedary camel herd in France. *Vet. Parasitol.* **162**: p. 214–220.
- Desquesnes, M., Kamyngkird, K., Pruvot, M., Kengradomkij, C., Bossard, G., Sarataphan, N., Jittapalapong, S. 2009. Antibody-ELISA for *Trypanosoma evansi*: Application in a serological survey of dairy cattle, Thailand, and validation of a locally produced antigen. *Preventive veterinary medicine*, **90**(3-4): p. 233-241.
- Dia, M. L., Diop, C., Aminetou, M., Jacquiet, P., Thiam, A. 1997a. Some factors affecting the prevalence of *Trypanosoma evansi* in camels in Mauritania. *Vet. Parasitol.* **72**(2) : p. 111-120.
- Dia *et al.* 1997b. Evaluation de quatre tests de diagnostic : frottis sanguins, CATT, IFI et ELISA-Ag dans l'étude de l'épidémiologie de la trypanosomose cameline à *Trypanosoma evansi* en Mauritanie. *Elev. Méd. vét. Pays trop.* **2**(1) : p. 29-36.
- [DLD] for Department of Livestock Development by Information and Statistics Group / Information Technology Center. 1984-2009.
- Doan, H. N., Nguyen, V. D. 2004. Trichinellosis in Vietnam (in Vietnamese). *J. Malar. Parasit. Dis. Cont.* **4**: p. 86–92.
- Dobson, R. J., Dargantes, A. P., Mercado, R. T., Reid, S.A. 2009. Models for *Trypanosoma evansi* (surra), its control and economic impact on small-hold livestock owners in the Philippines. *Int. J. for Parasitol.* **39**: p. 1115–1123.
- Dowler, M. E., Schillinger, D., Conner, R. J. 1989. Notes on the routine intravenous use of isometamidium in the control of bovine trypanosomiasis on the Kenya coast. *Trop. Anim. Hlth. Prod.* **21** : p. 4-10 (cité dans Indrakamhang, 1998).
- Elamine, E. A., El Bashir, M. O. A., Saeed, E. M. A. 1998. Prevalence and infection pattern of *Trypanosoma evansi* in camels in mid-Eastern Sudan. *Trop. Anim. Health Prod.* **30**: p. 107-114.
- Eloy, L. J., Lucheis, S.B. 2009. Canine trypanosomiasis: etiology of infection and implications for public health. *J Venom Anim Toxins incl Trop Dis.* **15**(4) : p. 589-611.
- Evans, G. H. 1910. A Treatise on Elephants: Elephants and their diseases. Part V. Infective Diseases, Chapter V. Trypanosomiasis –“Thut”-Elephant Surra. Myanmar (Burma) Government Press: p. 305-310.
- Faarungsang, S. 2003. Thai Swamp Buffalo General Information. Department of Animal Science, Kasetsart University, Thailand. 15 p.
- [FAO] Food and Agriculture Organization by Ulienbergh, G. 1998. A field guide for the diagnosis, treatment and prevention of African animal trypanosomosis. Chapter 5. Non tsetse-transmitted trypanosomoses. 170 p.
- [FAO]. 2005. Livestock Sector Brief : Thailand. 22 p.
- Accès à : www.fao.org/Ag/againfo/resources/en/.../sector_briefs/lsb_THA.pdf
- [FAO/WHO/OIE] Food and Agriculture Organization/World Health Organization/World Organization for Animal Health by Dupouy-Camet, J., Murrell, K. D., Boireau, P., Bruschi, F., Gamble, R. H., Nöckler, K., Kapel, C. M. O., Pozio, E. 2007. Guidelines for the surveillance, management, prevention and control of trichinellosis. 119 p.
- Foil, L. D., Hogsette, J. A. 1994. Biology and control of tabanids, stable flies and horn flies. *Rev Sci Tech.* **13**(4): p. 1125-58.

- Gajadhar, A. A., Pozio, E., Gamble, H. R., Nöckler, K., Maddox-Hyttel, C., Forbes, L. B., Vallée, I., Rossi, P., Marinculic, A., Boireau, P. 2009. *Trichinella* diagnostics and control: Mandatory and best practices for ensuring food safety. *Vet. Parasitol.* **159**: p. 197–205.
- Gamble, H. R., Bessonov, A. S., Cuperlovic, K., Gajadhar, A. A., Van Knapen, F., Noeckler, K., Schenone, H., Zhu X. 2000. International Commission on Trichinellosis: Recommendations on methods for the control of *Trichinella* in domestic and wild animals intended for human consumption. *Vet. Parasit.* **93**: p. 393–408
- Gill, B. S. 1977. Trypanosomes and Trypanosomiases of Indian Livestock. New Delhi, India, Icar Ed. 137 p.
- Gutierrez, C., Juste, M.C., Corbera, J.A., Magnus, E., Verloo D., Montoya, J.A. 2000. Camel trypanosomosis in the Canary Islands: assessment of seroprevalence and infection rates using the card agglutination test (CATT/*T. evansi*) and parasite detection tests, *Vet. Parasitol.* **90**: p. 155–159
- Herrera, H.M., Davila, A.M.R., Norek, A., Abreu, U.G., Souza S.S., D’Andrea, P.S., Jansen, A.M. 2004. Enzootiology of *Trypanosoma evansi* in Pantanal, Brazil. *Vet. Parasitol.*, **125** : p. 263–275.
- Hilali, M., Abdel-Gawad, A., Nassar, A., Abdel-Wahab, A. 2006. Hematological and biochemical changes in water buffalo calves (*Bubalus bubalis*) infected with *Trypanosoma evansi*. *Vet. Parasitol.* **139**: p. 237–243.
- Hoare, C.A. 1972. The Trypanosomes of Mammals. A Zoological Monograph. *Blackwell Scientific Publications. Oxford and Edinburgh*, 749 p.
- Holland, W. G., Claes, F., My, L. N., Thanh, N. G., Tam, P. T., Verloo, D., Buscher, P., Goddeeris, B., Vercruysse, J. 2001a. A comparative evaluation of parasitological tests and a PCR for *Trypanosoma evansi* diagnosis in experimentally infected water buffaloes. *Veterinary Parasitology* **97**: p. 23–33.
- Holland, W.G., My, L.N., Dung, T.V., Thanh, N.G., Tam, P.T., Vercruysse, J., Goddeeris, B. 2001b. The influence of *Trypanosoma evansi* infection on the immunoresponsiveness of experimentally infected water buffaloes. *Vet. Parasitol.* **102**, p. 225–234.
- Holland, W.G., DO, T. T., Huong, N. T., Dung, T.V., Thanh, N.G., Vercruysse, J., Goddeeris, B. 2003. The effect of *Trypanosoma evansi* infection on pig performance and vaccination against classical swine fever. *Veterinary Parasitology* **111**: p. 115–123
- Holland, W. G., Thanh, N. G., Do, T. T., Sangmaneeet, S., Goddeeris, B., Vercruysse, J. 2005. Evaluation of Diagnostic Tests for *Trypanosoma evansi* in Experimentally Infected Pigs and Subsequent Use in Field Surveys in North Vietnam and Thailand. *Trop. Anim. Health Prod.* **37**(6) : p. 457–467.
- Hollander, A.L., Wright, R.E., 1980. Impact of tabanids on cattle: blood meal size and preferred feeding sites. *J. Econ. Entomol.* **73**: p. 431–433 (cité dans Muzari *et al.*, 2000).
- Hribar, L.J., Leprince, D.J., Foil, L.D., 1992. Feeding sites of some Louisiana Tabanidae (Diptera) on fenvalerate-treated and control cattle. *J. Econ. Entomol.* **85**: p. 2279–2285.
- [ILRI] International Livestock Research Institute by Gautier, P., Nguyen, V. N, Bui, D. T., Lecrubier, R. 2009. Pig genotypes in Vietnam: Demand Versus Supply. 37 p.
- Indrakamhang, P., Thammasart, S. 1994. Determination of low-dose trypanocidal drug (diminazene aceturate) efficacy in cattle using a *T. brucei* group-specific monoclonal antibody. *J. Thai Vet.Pract.* **6** : p. 23–31.
- Indrakamhang, P. 1998. *Trypanosoma evansi* infection in livestock in Thailand. *J. Protozool. Res.* **8** : p. 153–161.
- Indramangala, J. 2002. Buffalo Development in Thailand. Department of Livestock Development ; Accès à : <http://breedplan.une.edu.au/thailand/buf%20ACIR.doc>.

- Kaewpitoon, N., Kaewpitoon, S. J., Philasri, C., Leksomboon, R., Maneenin, C., Sirilaph, S., Pengsaa, P. 2006. Trichinosis: Epidemiology in Thailand. *World J Gastroenterol.* **12**(40): p. 6440-6445.
- Kamyngkird, K., Pruvot, M., Desquesnes, M., Jittapalapong, S. En cours de publication. Evaluation de différente méthode d'extraction d'ADN.
- Kashemsant, A., Pholpark, M., Srihakhim, S., Pholpark, S., Leidl, K. 1989. Epidemiological pattern or *Trypanosoma evansi* in north-east Thailand and control measures. *J. Thai Vet. Med. associ* **3-4** : Traduction par Toon de l'article en Thaï.
- Kim, C. W. 1991. The significance of changing trends in trichinellosis. *Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health* **22** (Suppl): p. 316–320. (Cité dans Capo & Despommier, 1996).
- Li, S. Q., Fung, M. C., S.A. Reid, S. A., Inoue, N., Lun, Z. R. 2007. Immunization with recombinant beta-tubulin from *Trypanosoma evansi* induced protection against *T. evansi*, *T. equiperdum* and *T. b. brucei* infection in mice. *Parasite Immunology* **29** : p. 191–199.
- Löhr, K. F., Pholpark, S., Srikitjakarn, L., Betterman, G., Staak, C. 1985. *Trypanosoma evansi* infection in buffaloes in Northeast Thailand. I. Field investigation. *Trop. Anim. Hlth. Prod.* **18** : p. 121-125.
- Luckins, A. G. 1988. “*Trypanosoma evansi* in Asia.” *Parasitol Today* **4**(5): p. 137-42.
- Luckins, A. G. 1998. Epidemiology of Surra: Unanswered Questions. *J. Protozool. Res.* **8**: p.106-119.
- Mahasawangkul, S., Angkawanish, T. 2007. Elephant Health Status in Thailand -The Role of Elephant Hospitals and Mobile Elephant Clinics. Lampang, Thailand, Elephant Hospital, National Elephant Institute, Forest Industry, 6 p. (document interne).
- Martin, S. W., Meek, A. H., Willeberg, P. 1988. Veterinary Epidemiology : Principle and methods. Ames, Iowa, United States of America, Iowa State University Press, 1st Ed., 2nd Print., 344 p.
- Masiga, D. K., Smyth, A. J., Hayes, P. J., Bromidge, T. J., Gibson, W. C. 1992. Sensitive detection of trypanosomes in tsetse flies by DNA amplification. *Int. J. for Parasitol.* **22**: p. 909-918.
- Mitreva, M., Jasmer, D. P. 2006. Biology and genome of *Trichinella spiralis*. *WormBook*, ed. The *C. elegans* Research Community, WormBook, 21 p. doi/10.1895/wormbook.1.124.1, <http://www.wormbook.org>.
- Mullens, B.A., Gerhardt, R.R. 1979. Feeding behaviour of some Tennessee tabanidae. *Environ. Entomol.* **8**: p. 1047–1051 (cité dans Muzari *et al.*, 2000).
- Murrell, K. D., Bruschi, F. 1994. Clinical trichinellosis. *Prog. Clin. Parasitol.* **4**: p. 117–150. Résumé.
- Muzari, M.O., Skerratt, L. F., Jones, R. E., Duran, T. L. 2010 Alighting and feeding behaviour of tabanid flies on horses, kangaroos and pigs. *Vet. Parasitol.* VETPAR-5173; « Article in press », 8 pages.
- Ngaira, J.M., Bett B., Karanja, S.M. 2002. Animal-level risk factors for *Trypanosoma evansi* infection in camels in eastern and central parts of Kenya. *Onderstepoort J. Vet. Res.* **69** : p. 263-271.
- Njiru, Z. K., Constantine, C. C., Ndung'u, J. M., Robertson, I., Okaye, S., Thompson, R. C. A., Reid, S. A. 2004. Detection of *Trypanosoma evansi* in camels using PCR and CATT/*T. evansi* tests in Kenya. *Vet. Parasitol.* **124**: p. 187–199
- Nishikawa, H., Sarataphan, N., Tuntasuvan, D., Neramitmansuk, P. 1990. Serological Survey of Trypanosomiasis and Babesiosis in Cattle and Buffaloes in Thailand. Proc 7th Federation Of Asian Vet. Assoc. (FAVA) Congress, Pattaya, Thailand.
- [OIE] Organisation Internationale de la santé animale. 2005. Manuel terrestre de l'OIE. Chapitre 2.5.15. Surra (*Trypanosoma evansi*). p. 836-846.

- Oliver, Robert. 1978. Distribution and status of the Asian Elephant. *Oryx* **14** : p. 379 – 424. (cité dans Mahasawangkul & Angkawanish, 2007).
- Oivanen, L., Mikkonen, T., Haltia, L., Karhula, H., Saloniemi, H., Sukura, A. 2002. Persistence of *Trichinella spiralis* in Rat Carcasses Experimentally Mixed in Different Feed. *Acta vet. scand.* **43**(4) p. 203-210.
- Onah, D. N., J. Hopkins, *et al.* 1998. Increase in CD5+ B cells and depression of immune responses in sheep infected with *T.evansi*. *Vet. Immunol. Immunopathol.* **63**(3): 209-22.
- Osório, A. L. A. A. R., Madruga, C. R., Desquesnes, M., Soares, C. O., Ribeiro, L. R. R., da Costa, S. C. G. 2008. *Trypanosoma (Duttonella) vivax*: its biology, epidemiology, pathogenesis, and introduction in the New World - A review. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* **103**(1):p. 1-13.
- Ozowa, Y 1998. Strategies for the control of surra in Asia. *J. Protozool. Res.* **8**: p.103-105.
- Pathak, K. M. L., Kapoor, M. 1999. Transplacental transmission of *Trypanosoma evansi* in a donkey. *Indian Vet. J.* **76**(2): p. 1.
- Pawlowski, Z. S. 1983. Clinical aspects in man. In *Trichinella* and trichinellosis. New-York, USA, W.C. Campbell, ed. (New York: Plenum Press) (cite dans Mitreva & Jasmer, 2006).
- Payne, R. C., Sukanto, I. P., Djauhari, D., Partoutomo, S., Wilson, A. J., Jones, T. W., Boid, R., Luckins, A. G. 1991 *Trypanosoma evansi* infection in cattle, buffalo and horses in Indonesia. *Vet. Parasitol.* **38**: p. 109-119.
- Pholpark, S., Pholpark, M., Sarattaphan, S., Khonpasri, S., Taboran, P. No Date. Infection in Buffalo in Northeast Thailand, 2. Experimental Study. *Prev. Vet. Med.* **??**: p. 44.
- Pozio, E. 2000. Factors affecting the flow among domestic, synanthropic and sylvatic cycles of *Trichinella*. *Vet. Parasitol.* **93**: p. 241–262
- Pozio, E. 2001. Taxonomy of *Trichinella* and the epidemiology of infection in the Southeast Asia and Australian regions. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* **32**(Suppl 2): p. 129–132.
- Pozio, E. 2007. World distribution of *Trichinella spp.* infections in animals and humans. *Vet. Parasitol.* **149** : p. 3–21.
- Pozio, E. & Murrell, K. D. 2006. Systematics and epidemiology of *Trichinella*. *Adv. Parasitol.* **63**: p. 367-439.
- Pozio, E., Zarlenga, D.S. 2005 Recent advances on the taxonomy, systematic and epidemiology of *Trichinella*. *Int. J. for Parasitol.* **35** : p. 1191–1204.
- Pruvot, M. 2008. Trypanosomose à *Trypanosoma evansi* : comparaison de plusieurs amorces pour la détection de *T. evansi* par PCR. Rapport de Stage. Master 2^{ème} année, Biologie Géosciences Agroressources et Environnement (BGAE), spécialité Productions Animales en Régions Chaudes, année universitaire 2007-2008. Montpellier, France, Cirad-EMVT/Université Montpellier II. 59 p.
- Raina, A.K., Kumar, R., Sridhar, V.S.R., Singh, R.P. 1985. Oral transmission of *Trypanosoma evansi* infection in dogs and mice. *Veterinary Parasitology* **18**(1): p. 67-69.
- Rademaker, V., Herrera, H. M., Raffel, T. R., D'Andrea, P. S., Freitas, T. P. T., Abreud, U.G.P., Hudson, P.J., Jansen, A.M. 2009. What is the role of small rodents in the transmission cycle of *Trypanosoma cruzi* and *Trypanosoma evansi* (Kinetoplastida Trypanosomatidae)? A study case in the Brazilian Pantanal. *Acta Tropica* **111** : p. 102–107.
- Reid, S. A. 2002. *Trypanosoma evansi* control and containment in Australasia. *TRENDS in Parasitol.* **18**(5): p. 219-224
- Sambrook, J., Russell, D. W. 2001. Commonly Used Techniques in Molecular Cloning, Appendix 8, in *Molecular Cloning*, Volume 3. Cold Spring Harbor, NY, USA, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 3rd edition.

- Sangwan, N., Chaudhri, S. S., Rao, A. R., Sangwan, A. K., Gupta, R. P. 1993. Folicin and cyanocobalamin in relation to natural *Trypanosoma evansi* infection in buffaloes. *Trop Anim Health Prod.* **25**(2): p. 79-84.(Résumé).
- Sayasone S, Odermatt P, Vongphrachanh P, Keoluangkot V, Dupouy-Camet J, Newton PN, Strobel M, 2006. A trichinellosis outbreak in Borikhamxay Province, Lao PDR. *Trans R Soc Trop Med Hyg* **100**: p. 1126–1129.
- Schmitt, N., Saville, J. M., Greenway, J. A., Stovell, P. L., Friis, L., Hole, L. 1978. Sylvatic trichinosis in British Columbia: potential threat to human health from an independent cycle. *Public Health Rep.* **93**: p. 189–193.
- Schnauffer, A., Domingo, G. J., Stuart, K. 2002. Natural and induced dyskinetoplastic trypanosomatids: how to live without mitochondrial DNA. *Int J Parasitol* **32**: p. 1071–1084
- Shah, S. R., Phulan, M. S, Memon, M. A., Rind, R., Bhatti, W. M. 2004. Trypanosomes infection in camels. *Pakistan Vet. J.*, **24**(4): 2 pages.
- Sharma, D. K., P. P. Chauhan, Agrawal, R. D. 2000. Interaction between *Trypanosoma evansi* and *Haemonchus contortus* infection in goats. *Vet. Parasitol.* **92**(4): p. 261-267.
- Sicard, D., Fontan, R., Richard-Lenoble, D., Gentilini, M. 1976. Human trichinosis. A recent epidemic in Vientiane (Laos) (apropos of 32 cases). *Bull Soc Pathol Exot Filiales* **69**: p. 521–525.
- Silva, A.S.D., Ceolin, L.V., Oliveira, C.B., Monteiro, S.G., Doyle, R.L. 2007. Oral infection by *Trypanosoma evansi* in rats and mice. *Ciencia Rural* **37**, p. 897-900.
- Simarak, S., Loapaiboon, B., Sommart, K., Duangjinda, M., Pattarajinda, V., Lowilai, P., Vongpralab, T., Sanchaisuriya, P., Kanharieng, S., Phasuk, Y. 2005. Integrated Crop-Animal Systems in Southeast Asia: Current Status and Prospects. Chapter : Integrated crop-animal systems in Thailand. *Limited Proceedings 11* by International Rice Research Institute (IRRI). 195 p.
- Singla, L. D., Juyal, P. D., Sharma, N. S. 2009. Immune responses to haemorrhagic septicemia (HS) vaccination in *Trypanosoma evansi* infected buffalo-calves. *Trop. Anim. Health Prod.* **42**(4): p. 589-595.
- Songa, E.B., Paindavoine, P., Wittouck, E., Viseshakul, N., Muldermans, S., Steinert, M., Hamers, R. 1990. Evidence for kinetoplast and nuclear DNA homogeneity in *Trypanosoma evansi* isolates. *Mol. Biochem. Parasitol.* **43**, p. 167–79.
- Srikrajang , M. 1992. Asian Elephant Conservation in Thailand. Proceedings IUCN-SCC Asian Elephant Specialist Group. Bogor, Indonesia. (cité dans Mahasawangkul & Angkawanish, 2007)
- Sununta, C. 2010. Interview. Provincial veterinary, Chiang Rai Province, Department of Livestock Development.
- Takahashi, Y., Mingyuanb, L., Waikagul, J. 2000. Epidemiology of trichinellosis in Asia and the Pacific Rim. *Vet. Parasitol.* **93** : p.227–239.
- Tamarit A., Gutierrez, C., Arroyo, R., Jimenez, V., Zagalá, G., Bosch, I., Sirvent, J., Alberola, J., Alonso, I., Caballero, C. 2010. *Trypanosoma evansi* infection in mainland Spain. *Veterinary Parasitology* **167**(1): p. 74-76.
- Teeraprasert, E., Chaichanapunpol, I., Trongwongsa, L., Sakdasirisathaporn, A., Wongkasemchit, S., Udomphat, S., Suvarnavasi, P., Pinij, N. 1984. A Case Report of *T. evansi* in Pigs. In: Proc. 11th Ann. Vet. Sci. Cong., *The Thai Vet. Med. Assoc. Under Royal Patronage*, p. 6.
- Teeraprasert, E., Trongwongsa, L., Chaichanapunpol, I., Sakdasirisathaporn, A., Wongkasemchit, S., Udomphat, S., Suvarnavasi, P., Pinij, N., Tungchaitrons, S. 1985. The Experimental Infection of *T. evansi* in a sow. Bangkok, Thaïlande, National Veterinary Research and Diagnostic Centre (document interne, résumé).

- Thekiso, O. M. M., Inoue, N., Kuboki, N., Tuntasuvan, D., Bunnoy, W., Borisutsuwan, S., Igarashi, I., Sugimoto, C. 2005. Evaluation of loop-mediated isothermal amplification (LAMP), PCR and parasitological tests for detection of *Trypanosoma evansi* in experimentally infected pigs. *Vet. Parasitol.* **130**: p. 327–330.
- Thepsumethanone, V., Kortheerakul, K., Jullasap, P. 1984. Case Report. In: 11th Ann. Vet. Sci. Cong., *The Thai Vet. Med. Assoc. Under Royal Patronage*, p.116.
- Toma, B., Dufour, B., Sanaa, M., Bénet, J. J., Moutou, F., Louzà, A., Ellis, P. 1999. Applied veterinary epidemiology and the control of disease in populations. AEEMA, Maisons-Alfort, 536 pages.
- Tuntasuvan, D., Trongwongsa, L., Sukruen, A., Boritsuvan, S., Mohkaew, K., Chompoochan, T. 2003. Efficacy of Diminazene Aceturate on the Treatment of Trypanosomiasis in Pigs. *J. Thai Vet. Med. Assoc* **54**(1-2), p: 49-55.
- Uche, U.E. and Jones, T.W. 1992. Pathology of experimental *Trypanosoma evansi* infection in rabbits. *J. Comp. Pathol.* **106**, p. 299–309 (cité dans Reid, 2002).
- Vergne, T. Epidémiologie de *Trypanosoma evansi* en Thaïlande : Etudes expérimentales de la transmission vectorielle par les sangsues et les tiques. 2009. Thèse doc. vét., ENVT, Toulouse, France, n°4094, 92 p.
- Verloo, D., Holland, W., My, L. N., Thanh, N. G., Tam, P. T., Goddeeris, B., Vercruysse, J., Büscher, P. 2000. Comparison of serological tests for *Trypanosoma evansi* natural infections in water buffaloes from north Vietnam. *Vet. Parasitol.* **92**: p. 87–96.
- Vu Thi, N., Dorny, P., La Rosa, G., To Long, T., Nguyen Van, C., Pozio, E. 2010. High prevalence of anti-Trichinella IgG in domestic pigs of the Son La province, Vietnam. *Vet. Parasitol.* **168**: p. 136–140
- Wang, Z.-L. 1988. The similarities and differences of the characteristics between *T. equiperdum* and *T. evansi*. *Bul. Vet. Col. (PLA) (Chinese)* **8** : p. 300-303 (cité dans Brun *et al* 1998).
- Watanabe, N., Bruschi, F., Korenaga, M. 2005. IgE: a question of protective immunity in *Trichinella spiralis* infection. *Trends Parasitol.* **21**(4): 175–8.
- Watcharin, H.-O., Pranee, R., Aniroot, N., Vichit, U Manop, M. 2004. Surra in timber elephant in northern Thailand – Diagnosis and treatment: A case study. 5th District Livestock Journal for DLD.
Accès à : <http://www.dld.go.th/region5/suksaweb/Journal/2548/Volume%202/2548%20%28v.2%20i.1%29.pdf>
- Williams, R. 2003. Report for Animal Health Australia: Persistence of Disease Agents in Carcasses and Animal products. *Animal Health Australia 2003*: p147-148.
Accès à : <http://www.animalhealthaustralia.com.au/fms/Animal%20Health%20Australia/AUSVETPLAN/WilliamsReport.pdf>
- Woo, P. T. K. (1971). Evaluation of the haematocrit centrifuge and other techniques for the field diagnosis of human trypanosomiasis and filariasis. *Acta Tropica* **28** : p. 298-303.
- World Trade Press. 2007. BestCountryReports : Vietnam Country Reports
Precipitations: http://www.bestcountryreports.com/zoomify.asp?name=Z_Vietna_Precip
Temperature: http://www.bestcountryreports.com/media/D_Images/Vietna_Precip.jpg
- Zhou, J., Shen, J., Liao, D., Zhou, Y., Lin, J. 2004. Resistance to drug by different isolates *Trypanosoma evansi* in China. *Acta Tropica* **90** : p. 271–275.

Annexe 1 : Etude préliminaire de Trypanosoma evansi chez les éléphants en Thaïlande

L'éléphant tient une place prépondérante dans la société thaïlandaise à travers la religion, la culture et l'économie. Historiquement présent sur l'ensemble du territoire thaïlandais ([Oliver, 1978](#)), il servait tant au transport, à l'industrie du bois qu'à la guerre ([Mahasawangkul & Angkawanish, 2007](#)).

Au nombre de 100 000 au début du 20^{ème} siècle ([Oliver, 1978](#)), les éléphants domestiques ne sont plus que 3 456, essentiellement localisés à Surin, Chiang Mai et Chonburi ([Mahasawangkul & Angkawanish, 2007](#)). Cette réduction s'explique en partie par l'interdiction en 1989 de l'abattage du tek suite à la destruction massive des zones forestières provoquant un effondrement de la population sauvage. En effet, celle-ci est estimée à 2 000 individus pour les derniers recensements ([Srikrajang, 1992](#)) contre 300 000 au début du 20^{ème} siècle ([Oliver, 1978](#)). Aujourd'hui, les éléphants domestiques sont destinés au tourisme ou au commerce (vente d'ivoire, viande...). Seulement une infime partie est encore utilisée pour l'exploitation illégale des forêts ([Mahasawangkul & Angkawanish, 2007](#)).

Depuis longtemps, l'éléphant est connu pour étant un hôte potentiel de *T. evansi*, Evans en 1880 étant le premier à en faire cas. Malheureusement jusqu'à ce jour aucune étude n'a réellement été menée. C'est dans ce contexte qu'une étude sur ces animaux a été initiée.

Les échantillons ont été prélevés dans le village de Ta Klang au sein même du *Elephant Study Center* situé dans le district de Tha Toom dans la province de Surin. Ce centre promeut les relations fortes existant entre le Khan Chang (=cornac) et l'éléphant à travers divers exhibitions (peinture, foot, balade, baignade) et ainsi sensibiliser le public. Ce centre compte 170 éléphants dont une trentaine ont élu domicile. Les autres vivent à l'extérieur et s'y rendent chaque mois pour les exhibitions (Interview du Directeur du Centre, 2010).

Depuis 2006 un projet, initié par la direction provinciale de Surin, se veut de regrouper l'ensemble des éléphants du pays et faire de Ta Klang le plus grand village d'éléphants à l'échelle de la planète en offrant assistance et logement durable à ces pachydermes et leur Khan Chang (Interview du Directeur du Centre & Dr. Naponrum, 2010)³.

Au total, 29 échantillons d'éléphants seulement ont été récoltés sur la base du volontariat et surtout en fonction du bon vouloir des animaux. Les Khan Chang ont été préalablement avertis de l'échantillonnage par la DLD de Surin et le Dr. Bra Min (Animal Health Institute) qui servirent ainsi d'intermédiaire.

Après diagnostic parasitologique et sérologique (CATT) aucun des 29 individus ne présentaient de traces de l'infection. L'ELISA, en l'absence de bon contrôle, n'a pu être mis en place et standardisé.

Une prochaine investigation, courant novembre, au moment de la journée nationale de l'éléphant, permettra d'aller plus loin quant à l'impact de *Trypanosoma evansi* chez ces pachydermes.

³ A noter que tout les ans, la journée nationale de l'éléphant en novembre se tient au sein même de cette province. A cette occasion, une partie des éléphants du pays rejoint Surin pour les festivités même si l'engouement des cornacs s'essouffle faute d'un « salaire » trop peu élevé comparé au coût du déplacement (Interview). D'où l'intérêt de regrouper ces pachydermes

Annexe 2 : Protocole ELISA

1. ELISA/*Trypanosoma evansi*

A. Les buffles

Les plaques 96 puits Microtest Polysorp Nunc[®] (Nunc[®], Roskilde, Danemark) ont été recouvertes avec 100 µl/puits d'antigène soluble à 5 mg/ml dans un tampon carbonate (0,05 M, pH 9.6). Après incubation toute la nuit à +4°C, les plaques sont rincées une fois par une solution tampon phosphate salin (PBS). Une solution bloquante (SB) (PBS contenant 0.1% Tween20 (Labchem[®], Pittsburg, USA) et 7% lait écrémé en poudre (Réf: 190-12865, Wako Pure[®] Industries Chemical Ltd, Osaka, Japon) est ajoutée pour un volume de 150 µl/puits. L'ensemble est incubé pendant 30 min à agitation permanente (300 puis 150 rpm) à 37°C. Après rinçage les sera (ou plasma), dilués au 1/100 dans la SB, sont déposés en double sur la plaque et le tout est placé dans un incubateur dans les mêmes conditions que précédemment. Sept lavages successifs au PBS-Tween 20 (PBS-T) (tampon phosphate salin contenant 0.1% Tween 20) sont préalablement effectués avant de déposer le conjugué anti-bovin (Réf : A 5295 , Sigma[®], USA), dilué au 1/25 000 dans du SB. Après sept lavages, le substrat chromogène, 3,30,5,50-tétraméthylbenzidine (TMB) (SureBlue[™] TMB, KPL[®], Maryland, USA) est placé. Pour finir, après 30 min d'incubation dans un endroit sombre à température ambiante, la densité optique (DO) est mesurée à 630 nm dans un lecteur ELISA (Dynex Technologies[®], VA, USA).

B. Les porcs

Le même protocole est appliqué pour les porcs à l'exception du conjugué *anti-pig* (Réf : A 5670, Sigma[®], USA), dilué au 1/10 000 dans du SB.

2. ELISA/*Trichinella spiralis*

Les plaques 96 puits Microtest Polysorp Nunc[®] ont été recouvertes avec 100 µl/puits d'antigène E/S dilué au 1/30 dans un tampon carbonate (0,05 M, pH 9.6). Après incubation à +4°C *overnight*, les plaques sont vidées, 150 µl/puits de SB (PBS contenant 0.1% Tween20 et 0,2% de gélatine en poudre (Réf: G-8150, Sigma, St-Louis, USA) portée à ébullition puis laisser refroidir avant utilisation) est ajoutée puis le tout est incubé pendant 30 min à agitation permanente (300 puis 150 rpm) à 37°C. Les sera, dilués au 1/100 dans la SB, ont été déposés en double sur la plaque puis incubés à 37°C pendant 30 min. Après cinq lavages successifs au PBS-T, le conjugué *anti-pig* (Réf : A5670, Sigma, St Louis, USA) dilué au 1/10 000 dans du SB est ajouté puis l'ensemble est placé dans un incubateur comme précédemment. Après cinq lavages, le substrat chromogène (TMB) est ajouté. Après 30 min d'incubation à 30°C dans un endroit sombre, la DO est mesurée à 630 nm à l'aide d'un lecteur ELISA (Dynex Technologies1, VA, USA).

Annexe 3 : Protocole d'extraction d'ADN au phénol-chloroforme

(Sambrook & Russel, 2001)

❖ Solution dénaturée

- 4M thiocyanate de guanidine, 25 mM citrate de sodium (pH 7.0), 10% N-lauroylsarcosine, eau bidistillée

❖ Tris buffer 10x (TE)

- Diluer 15,76 g de Tris-HCL et 3,72 g d'EDTA dans 500 ml d'eau distillée
- Ajuster le pH à 8.0
- Compléter avec de l'eau distillée pour un volume d'1L

❖ Protocole

1. Mettre 100 µl de sang en présence de 500 µl de solution dénaturée puis agiter 10 min.
2. Ajouter 150 µl de chloroforme (Carlo Erba Reagents, Rodano, Italia) puis 150 µl de phénol ADN (pH 7,9 ; Amresco®, Ohio, U.S.A), soit chloroforme: phénol = 1:1, et agiter 10 min.
3. Centrifuger à 15 000 g pendant 5 min pour séparer les phases.
4. Recueillir le surnageant, 600 µl, à l'aide d'un microtube propre (1,5 ml), en évitant soigneusement, à la dernière collecte, les protéines à l'interface aqueuse du phénol.
5. Répéter le même protocole pour nettoyer le surnageant (étape 2-4) ; recueillir 400 µl de surnageant et le transférer dans un nouveau microtube (1,5 ml).
6. Précipiter l'ADN en ajoutant 1 ml d'éthanol absolu (99,99%), mélanger délicatement et placer le tube à -20° C toute la nuit.
7. Centrifuger à 15 000 g pendant 10 minutes. Enlever avec précaution le surnageant.
8. Laver le culot d'ADN avec 700 µl d'éthanol à 75%, centrifuger à 15 000 g pendant 5 min. Répéter cette étape afin de décanter le surnageant et laisser sécher à l'air libre.
9. Dissoudre le culot d'ADN avec 50 µl de tampon TE (pH 7,8) avant stockage à -20 C.

Annexe 4 : PCR pour l'amplification de la région TBR (Masiga et al., 1992)Etape 1 : *Master mix*

Pour chaque échantillon, un volume de 22 µl/réaction de PCR est préparé. Pour ce faire 2 µl d'ADN de chaque échantillon est additionné à un mélange de réactifs (Tableau 7).

Tableau 7 : Solution pour conduire la PCR

| Composés | Stock | Concentration Finale | µl/réaction |
|--|--------|----------------------|---------------|
| Tampon PCR (10mM Tris; 0 mM MgCl ₂ ; 50mMKCl) | 10x | 1x | 2,20 |
| MgCl ₂ | 25 mM | 200 µM | 0,66 |
| dNTP-mix (dNTP set, Fermentas, Ontario, Canada) | 20 mM | 1,5 mM | 1,76 |
| Primer TBR 1 (Biodesign™) | 100 µM | 1 µM | 1,10 |
| Primer TBR 2 (Biodesign™) | 100 µM | 1 µM | 1,10 |
| Taq DNA Polymerase Cat. n° 11615-010 (Recombinant, Invitrogen™, Brazil) | 5 U/µl | 0,5 U | 0,22 |
| Eau bidistillée | | | 12,96 |
| | | | Σ vol = 20 µl |

Etape 2 : Thermocycler (amplification de l'ADN)

Tableau 8 : PCR ; étapes pour l'amplification de la région TBR

| Etape | Objectif | Température | Temps | Nombre de cycles |
|----------|-----------------------------|-------------|-------|------------------|
| 1 | Dénaturation initiale | 94 °C | 60 s | 1 |
| 2 | Dénaturation | 94 °C | 30 s | |
| 3 | Liaison ou <i>annealing</i> | 60 °C | 60 s | 30 |
| 4 | Elongation | 72 °C | 30 s | |
| 5 | Elongation finale | 72 °C | 120 | 1 |

Annexe 5 : Protocole électrophorèse sur gel d'Agarose (2%)

❖ Tampon de charge

- 40% glycérol, 0,25% bleu de bromophénol dilué dans du tampon TBE 1x.

❖ Tris Borate EDTA Buffer (TBE 10x)

- Dissoudre 108 g Tris-base (0,89 mol/L) dans 500 ml d'eau distillée
- Après homogénéisation, ajouter 55g d'acide borique (1,54 mol/L) et 9,3 g EDTA sel dissodique (0,025 mol/L).
- Ajuster à un volume de 1L par ajout d'eau distillée.

❖ TBE 1x

- 50 ml de 10x TAE dilué dans 950 ml d'eau distillée.

❖ Bromure d'éthidium (BE) (10mg/ml)

- 100 mg de BE dilué dans 100 ml TBE 1x.

❖ Protocole

1. 2 g d'Agarose (Agarose D1 Low EEO, PronadisaTM, Conda, Madrid, Spain) dilué dans 100 ml de tampon TBE 1x
2. Chauffer la solution aux micro-ondes jusqu'à homogénéisation de la solution.
3. Faire descendre la température à 60°C puis couler le gel et laisser sécher.
4. Enlever les peignes et placer le gel dans le *tank*.
5. Remplir le *tank* de TBE 1x jusqu'à immersion des puits.
6. Prendre un morceau de parafilm et préparer pour les n échantillons et les deux contrôles, positif et négatif : 6 µl mélange à 2 µl de tampon de charge/puits.
7. Placer dans le premier et dernier puits 5µL du marqueur 100 pb DNA Ladder GeneRulerTM (Fermentas, UE).
8. Fermer le couvercle et appliquer un champ électrique de 120 V à 500mA pendant 1 heure.
9. Après migration, placer le gel dans un bain de BE pendant 5 min puis le rincer à l'eau distillée pendant 15 min.
10. Le gel une fois séché est photographié sous lampe UV ($\lambda=302\text{nm}$, DyNA LightTM, Labnet, New Jersey, U.S.A) et la taille de l'ADN estimée par comparaison avec le marqueur de poids moléculaire 100 pb.

Annexe 6 : Illustrations de l'élevage de buffle et de porc en Thaïlande

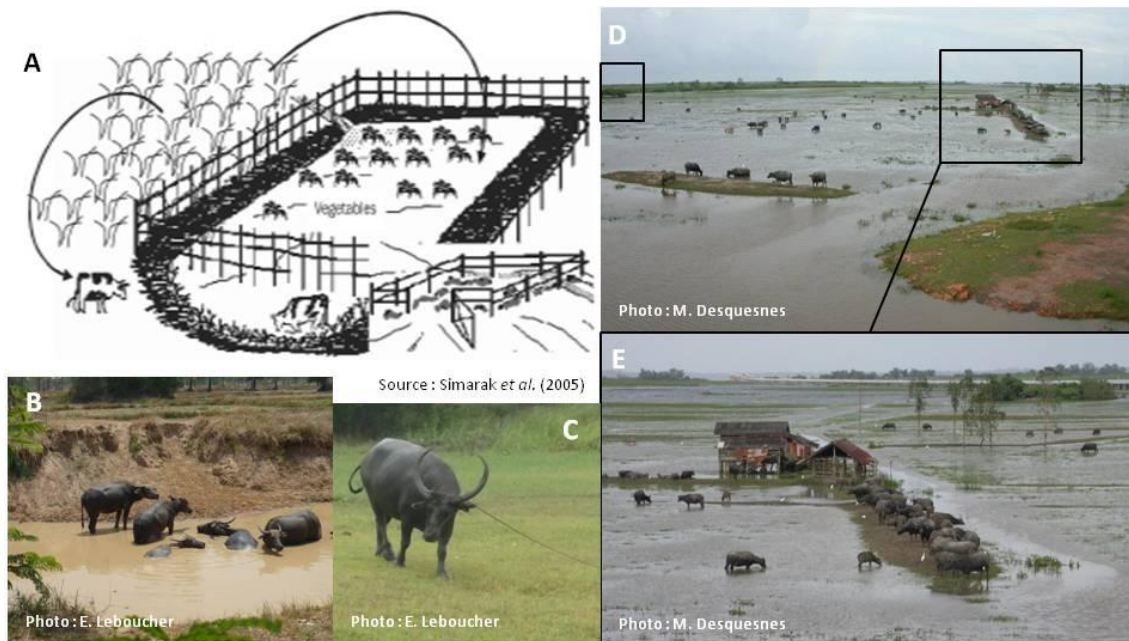


Figure 20 : Divergences NE/Sud de l'élevage de buffles : A-C : Elevage dans la Région NE, province de Buriram (photo) ; D&E : Elevage dans la Région Sud, province de Songkhla. Durant la saison sèche les buffles divaguent, se regroupent aux rares points d'eau [maximisant les contacts] (B) et se nourrissent des résidus de culture (riz/légumes) jusqu'au début de la saison des pluies où ils sont employés pour fertiliser les sols et labourer la terre (A). Durant la saison des pluies, ils sont attachés aux abords des exploitations/routes où ils se nourrissent de l'herbe grasse (C.). Pas forcément à proximité de point d'eau ils sont sensibles aux attaques incessantes des insectes. D. Présence de deux exploitations à gauche et droite de la photo, les animaux divaguent. E : Espace contigu, les animaux sont collés les uns les autres maximisant les contacts.



Figure 21 : L'élevage porcin type backyard à Chiang Rai, Thaïlande : A&C .porc dans un enclos (A) ou au piquet (C) ; B : viande fraîchement découpée pour la préparation des mets à base de viande de porc crue à l'occasion du jour de l'an ; D. cuisinier préparant la viande sans aucune protection.